Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY LIBRARY DEC 14 1927

DOORSTROOMING VAN OVERLEVENDE ORGANEN MET ACETONGLUCOSE EN ACETON IN VERBAND MET HYPOTHESEN OMTRENT KETOSIS EN DE WERKING VAN INSULINE

Amsterdam

J. M. H. A. MARTENS

Lane Medical Library

DOORSTROOMING VAN OVERLEVENDE ORGANEN MET ACETONGLUCOSE EN ACETON IN VERBAND MET HYPOTHESEN OMTRENT KETOSIS EN DE WERKING VAN INSULINE

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT
TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS Dr. H. BRUGMANS, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP DONDERDAG 5 MEI 1927, DES NAMIDDAGS TE 5 UUR, IN DE AULA DER UNIVERSITEIT

DOOR

JAN MARIE HENRI ANTOINE MARTENS
GEBOREN TE HAARLEM.

AMSTERDAM
SCHELTEMA & HOLKEMA'S BOEKHANDEL
1927

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/doorstroomingvan0000jmha

Aan mijn Ouders.

Hoewel het reeds meerdere jaren geleden is dat ik het artsexamen aflegde, aanvaard ik gaarne de gelegenheid die het verschijnen van dit proefschrift mij biedt om U, Hoogleeraren en Oud-hoogleeraren der Medische en Natuurphilosophische faculteiten te Amsterdam mijn erkentelijkheid te betuigen voor het onderwijs dat ik van U mocht ontvangen. Met weemoed gedenk ik mijn leermeesters STRAUB, PEL, TREUB, WERTHEIM SALOMONSON, VERSCHAFFELT en DE BRUIN, wier nagedachtenis door mij in hooge eere wordt gehouden.

Hooggeleerde LAQUEUR, hooggeachte promotor, U ben ik grooten dank verschuldigd. Hoewel ik niet het voorrecht heb gehad tot Uwe leerlingen te behooren, waart gij op mijn verzoek aanstonds bereid mij in de gelegenheid te stellen in Uw laboratorium en onder Uw leiding een onderzoek te verrichten, hetgeen aanleiding gaf tot dit proefschrift. De buitengewoon voorkomende wijze waarop gij mij gastvrijheid hebt verleend in Uw laboratorium, waar ik de plichtsbetrachting, werklust en behulpzaamheid van een ieder heb leeren waardeeren, gevoegd bij de scherpzinnige, wetenschappelijke voorlichting die ik van U mocht ontvangen, zijn oorzaak, dat ik den tijd aan de vervaardiging van dit proefschrift besteed, steeds met genoegen en een gevoel van groote dankbaarheid zal gedenken.

Zeergeleerde DINGEMANSE, dankbaar heb ik gebruik gemaakt van Uw diepgaande kennis waar het betrof de chemische moeilijkheden bij mijn proeven, doch ook Uw daadwerkelijke steun bij mijn onderzoekingen, op zoo heusche wijze verleend, was voor mij letterlijk onmisbaar en hiervoor betuig ik U oprechten dank.

Geachte collegae DE JONG en GREVENSTUK, herhaaldelijk waart gij zoo vriendelijk mij bij te staan bij mijn proefnemingen, hetgeen ik op hoogen prijs heb gesteld.

Zeergeleerde VAN SPANJE, gedurende de acht jaren dat ik onder Uw leiding in het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis heb mogen werken, heb ik zooveel voorlichting, steun en vriendschap van U mogen ondervinden, dat het mij moeilijk valt in een enkelen zin blijk te geven van mijn dankbaarheid en mijn waardeering voor U als voortreffelijk clinicus, uitnemend bestuurder en hoogstaande persoonlijkheid.

Dank zij Uwe medewerking en inschikkelijkheid vond ik den noodigen tijd voor het bewerken van dit proefschrift.

Tenslotte een woord van dank aan allen, die mij, in eenigerlei opzicht, bij mijn onderzoek van dienst zijn geweest.

INHOUD.

Blz.

HOOFDSTUK I 1
Over het verband tusschen koolhydraten en acetonlichamen.

HOOFDSTUK II 12
Over het doel van het onderzoek.

HOOFDSTUK III 25
Over de techniek van de doorstrooming.

HOOFDSTUK IV 36
Over het chemische onderzoek.

HOOFDSTUK V 50
Eigen proeven en samenvatting.

HOOFDSTUK I.

OVER HET VERBAND TUSSCHEN KOOLHYDRATEN EN ACETONLICHAMEN.

Onder acidosis verstaat men bij suikerziekte een retentie van bepaalde zuren n.l. ß-oxyboterzuur en diaceetzuur, benevens van aceton en, hoewel deze benaming onjuist is, omdat aceton geen zuur is, blijft het toch gemakshalve wenschelijk, het omschreven begrip met den reeds lang bestaanden foutieven naam aan te geven. Wil men „acidosis" vervangen door „ketosis" dan dient men te bedenken, dat dit geen verbetering genoemd mag worden, waar het ß-oxyboterzuur geen keton is.

Na de ontdekking van het aceton als stofwisselingsproduct door PETTERS in 1857, zijn er tal van jaren verloopen voor men een goed inzicht had in wat men later zou noemen „acidosis" en dit lag niet alleen aan de oorspronkelijk gebrekkige wijze van het aantoonen van aceton, doch ook zeker aan de moeilijkheden bij de identificatie van de eerst veel later gevonden zuren, diaceetzuur en ß-oxyboterzuur. Het ligt niet in mijn bedoeling nader in te gaan op de geschiedenis van de ontdekking der aceton- of ketonlichamen, te weten aceton CH_3. CO. CH_3, diaceetzuur CH_3. CO. CH_2. COOH en ß-oxyboterzuur CH_3. CHOH. CH_2. COOH, noch van die van het opsporen der moederstoffen.

Bij de bespreking van den invloed die de koolhydraten op het ontstaan, het afbreken of het voorkomen van de vorming der acetonlichamen hebben, zullen echter eenige uit de groote hoeveelheid van vaststaande of vermeende feiten betreffende het ontstaan der ketonlichamen niet ontbeerd kunnen worden.

In 1860 bevestigde KAULICH de onderzoekingen van PETTERS aangaande het voorkomen van aceton. Hij toonde aceton uitsluitend aan in de urine van diabeteslijders en meende de gevolgtrekking te mogen maken dat deze stof een afbraakproduct van suiker zou zijn. Een belangrijke steun voor deze opvatting was het bewijzen van de mogelijkheid van het ontstaan van aceton uit suiker, zooals dit reeds in 1835 door FREMY werd gedaan. Deze stelling, de vorming van aceton uit suiker in het organisme, zou echter niet lang stand houden, toen bleek, dat bij uitsluitende vleeschvoeding der suikerzieken, een behandelingswijze door CANTANI aanbevolen, dus zonder toevoegen van koolhydraten, eveneens een vermeerdering van aceton ontstond; een waarneming waardoor het ontstaan van aceton uit suiker wel zeer onwaarschijnlijk was geworden.

Inmiddels was het onderzoek naar de eigenaardige veranderingen in de urine bij zwaren diabetes of coma diabeticum weer belangrijk vooruitgegaan door het aantoonen van diaceetzuur en ß-oxyboterzuur en door het vaststellen van de structuurformules, waarbij het werk van MINKOWSKI [1] [2] een der grootste bijdragen is geweest. Niet alleen dat hij een eind maakte aan de gissingen omtrent de samenstelling der stof die ß-oxyboterzuur zou blijken, doch reeds in 1884 gaf hij de wijze aan, waarop dit zuur verder kon worden afgebroken: door oxydatie tot diaceetzuur en verdere splitsing in aceton en kooldioxyde. Tevens wees hij toen ook op de mogelijkheid, dat de ketonlichamen uit vetten zouden kunnen ontstaan, doch deze veronderstelling werd op den achtergrond gedrongen door de aandacht, die men besteedde aan het zoeken van bewijzen om het eiwit als moederstof te beschouwen.

JAENICKE [3] is niet de eerste geweest, die het vermoeden heeft uitgesproken, dat de eiwitten de grondstof zouden zijn

1) MINKOWSKI, O. Uber das Vorkommen von oxybuttersäure im Harn bei Diabetes mellitus. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **18**—35—1884.

2) MINKOWSKI, O. Nachtrag über das Vorkommen von oxybuttersäure im Harn bei Diabetes mellitus. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **18**—147—1884.

3) JAENICKE, A. Beitrage zur sogenannten Acetonämie bei Diabetes mellitus. Deutsch. Arch. f. Klin. Medizin. **30**—108—1882.

voor het diaceetzuur in de urine, want reeds waren FLEISCHER en EBSTEIN hem daarin voorgegaan. Op grond van proeven op menschen, die werden gezet op absoluut vleeschdieet, meent hij elken twijfel te mogen uitsluiten.

Tevens maakt JAENICKE de opmerking, dat toevoegen van „amylaceen" aan het voedsel de vorming van diaceetzuur tegen gaat.

Met KAULICH en PETTERS ziet JAENICKE in maagstoornissen, veroorzaakt bij zijn diabeteslijders door de buitensporige hoeveelheden eiwit, de voornaamste oorzaak van het ontstaan der diaceeturie.

In 1885 is ROSENFELD [1]) tot grootendeels dezelfde resultaten gekomen, waarbij hij zich vooral keerde tegen de opvatting, dat de vorming van een belangrijke hoeveelheid niet nader gedefinieerde zuren door het vleeschdieet, de aanleiding tot acetonurie zou zijn.

In zijn beschouwingen omtrent het ontstaan van aceton wordt, merkwaardig genoeg, vet zelfs niet genoemd als moederstof en alleen aandacht geschonken aan eiwitten, hetzij voedings- of lichaamseiwit, en koolhydraten. Als argument tegen de suikers als moederstof voor aceton voerde hij aan, dat bij koolhydraatonthouding de beschikbare hoeveelheden in het organisme dier stoffen onvoldoende zouden zijn voor de betrekkelijk groote hoeveelheden gevormde aceton en bovendien legt ROSENFELD nog eens den nadruk op het feit dat, wanneer acetonurie verkregen is door eiwitvoeding, het verstrekken van koolhydraten voldoende is om het aceton te doen verdwijnen en wel zoo „dasz man an eine Zerstörung des Acetons durch die Kohlenhydrate denken konnte". Meer dan een losse gedachte zal dit wel niet geweest zijn, want na zijn pleidooi voor de eiwitten als grondstof voor het aceton, geeft ROSENFELD als zijn meening te kennen, dat de in de voeding aanwezige koolhydraten de eiwitafbraak sparen en op deze wijze de acetonurie verminderen.

---

1) ROSENFELD, G. Uber die Entstehung des Acetons. Deutsche medic. Wochenschrift. **40**—683—1885.

Het was vooral tegen deze laatste uitspraak, die door tal van onderzoekers werd gesteund, dat HIRSCHFELD [1]) in 1895 zijn bezwaren ontwikkelde. In een uitgebreide reeks proeven op éénzijdig gevoedden en hongerenden toonde HIRSCHFELD aan, welk een wanverhouding er bestond tusschen de geringe beperking van de eiwitafbraak door een bepaalde hoeveelheid koolhydraat en den grooten invloed dier zelfde hoeveelheid op de acetonurie. Dit was wel in tegenstelling met de waarneming dat, wanneer het eiwitverlies sterk beperkt wordt door vetvoeding, er geen gunstige invloed op de acetonurie werd gezien.

Door zijn proeven kwam HIRSCHFELD tot de meening dat niet honger of afbraak van lichaamseiwit de oorzaak was voor het ontstaan van aceton, doch dat uitsluitend het gebrek aan koolhydraten in het voedsel als grondoorzaak was aan te zien. In het zelfde jaar dat HIRSCHFELD dit vermoeden uitsprak verscheen een publicatie van ROSENFELD [2]) waarin hij tot gelijksoortige bevindingen komt. Wanneer deze schrijver zich een oordeel tracht te vormen omtrent de vraag of het mogelijk is, dat reeds gevormd aceton wordt verbrand bij koolhydraattoevoeging òf dat de vorming van het aceton op deze wijze wordt voorkomen, kan hij geen klemmende bewijzen aanvoeren en stelt zich tevreden met een wat ruime omschrijving: „So viel ist aber sicher, dasz der Kohlenhydratstoffwechsel das Auftreten von Aceton im Harn verhindert" en, wanneer hij zijn meening geeft over de acetonurie bij den diabeteslijder, legt hij den nadruk op het feit, dat bij dezen een eigenlijke stofwisseling van koolhydraten ontbreekt, althans verminderd is. Na ROSENFELD is het vooral GEELMUYDEN [3]), die de aandacht vestigt op een te geringe koolhydraatstofwisseling als oorzaak voor het onvermogen om een der ketolichamen (hij experimenteert met diaceetzuur) af te breken

1) HIRSCHFELD, F. Beobachtungen über die Acetonurie und das Coma diabeticum. Zeitschrift f. Klin. Mediz. **28**—176—1895.

2) ROSENFELD, G. Die Grundgesetze der Acetonurie und ihre Behandlung. Centralbl. f. innere Medic. **51**—1233—1895.

3) GEELMUIJDEN, H. C. Untersuchungen über Acetonkörper. Skand. Arch. f. Physiol. **11**—97—1901.

en hij vindt dan ook dit verschijnsel zoowel bij den mensch in hongertoestand of met koolhydraatvrije voeding, als bij den kunstmatigen diabetes door pancreasextirpatie of phloricine-inspuiting bij honden. Bij de suikerziekte is de graad van het vermogen om koolhydraten te verbranden tevens een aanwijzing voor de bestrijding van de acidosis: bij lichten diabetes gedraagt de ketonurie zich als bij den normalen mensch, waar bij koolhydraatvrije kost aceton in de urine verschijnt, doch door suikertoevoer weer tot verdwijnen is te brengen; dit gelukt bij middelzware gevallen minder snel en afdoende, en bij zware gevallen in het geheel niet. VON NOORDEN gaf echter met voorbeelden aan dat dit te schematisch is en dat bij diabetici met vrij groote suikerstofwisseling een sterke acidosis kan voorkomen.

Volgens GEELMUYDEN is de koolhydraatstofwisseling zonder twijfel geen enkelvoudig gebeuren, doch zal wel bestaan uit tal van processen, die naast elkaar verloopen en in verschillende organen. „Was nun die chemische Art der Stoffwechselvorgänge betrifft, welche sich abspielen, wenn Acetessigsäure oder ß-oxybuttersäure bei genügendem Kohlenhydratumsatz im Körper zum verschwinden gebracht wird, so scheint es mir noch verfrüht, Hypothesen darüber zu bilden, weil solche Hypothesen einer empirischen Grundlage zu sehr entbehren müszten. Vielfach wird Nasse's secundäre Oxydation als Erklärung herangezogen, und zwar stellt dieselbe eine Möglichkeit dar, mit welcher man bei der Aufstellung von Hypothesen zu rechnen hatte. Es darf aber nicht aus dem Auge gelassen werden, dasz die Wechselwirkung zwischen Kohlenhydrate und Acetonkörpern von weit complicierterer Art sein kann. Zwischen dem Umsatz der Kohlenhydrate einerseits und der Acetessigsäure und ß-Oxybuttersäure andererseits können sehr wohl eine ganze Reihe chemischer Processe eingeschaltet sein, von deren Natur wir vorläufig nicht einmal eine Vermutung haben können." [1])

1) GEELMUIJDEN, H. C. Uber den Acetongehalt der Organe an Coma diabeticum Verstorbener nebst Beiträge zur Theorie des Acetonstoffwechsels. HOPPE—SEILER's Zeitschr. f. physiol. Chemie. 41—128—1904.

Ondanks dit pessimisme waagt GEELMUYDEN er zich aan om na eenige jaren met een hypothese voor den dag te komen. Uit proeven van SCHWARZ,[1]) WALDVOGEL, MÜLLER en hem zelf was gebleken, dat zoowel diaceetzuur als ß-oxyboterzuur, mits niet in buitensporige hoeveelheden, aan gezonden met een gemengde voeding toegediend, door het organisme nagenoeg volkomen wordt afgebroken en slechts sporen dier stoffen in de excreten te voorschijn komen, in tegenstelling met aceton, dat slechts voor een klein gedeelte wordt ontleed.

Hoewel hij eenige andere mogelijkheden overweegt, meent GEELMUYDEN te moeten aannemen, dat ß-oxyboterzuur en diaceetzuur intermediaire stofwisselingsproducten zijn, die in vrij groote hoeveelheid gevormd worden en bij normale voeding en normale stofwisseling weer in andere worden omgezet. Aceton beschouwt hij echter niet als een normaal voorkomend intermediair stofwisselingsproduct.

Het reeds herhaaldelijk vermelde feit, dat de koolhydraten zulk een belangrijke factor zijn in het al of niet ontstaan der ketonlichamen in groote hoeveelheden, brengt hem tot de veronderstelling „dasz sich Kohlenhydrate und Acetonkörper im intermediären Stoffwechsel mit einander durch eine Synthese verbinden, welche für die weitere Umsetzung der Acetonkörper notwendig ist, und deren Ausfall oder Einschrenkung folglich eine Anhäufung mit auffolgender Ausscheidung von Acetonkörpern bedingen musz." Voor het opstellen van deze aantrekkelijke theorie is steun te vinden bij de talrijke voorbeelden zoowel in planten- als in dierenrijk, waar koolhydraten aanleiding geven tot vorming van glucsiden, samengestelde koolhydraten, eiwitten enz. Dat er in de intermediaire stofwisseling van den mensch soortgelijke bindingen voorkomen als GEELMUYDEN bedoelt, is reeds bekend uit de verbinding die de glucuronzuren aangaan met tal van stoffen, waardoor deze voor afbraak behoed worden. GEELMUYDEN geeft dit voorbeeld echter niet met de bedoeling

1) SCHWARZ, L. Uber die Oxydation des Acetons und homologer Ketone der Fettsäurereihe. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **40**—168—1897/98.

dat zijn hypothetische koolhydraat-aceton verbinding over de glucuronzuren zou gaan, iets wat hem, ten onrechte is toegeschreven door BAER.

Het is niet alleen GEELMUYDEN die wijst op een mogelijke synthese van koolhydraten, want in 1906 zinspeelt ROSENFELD [1]) op een verbinding tusschen die stoffen en de vetten. Langzamerhand was de reeds door MINKOWSKI aangegeven mogelijkheid van het ontstaan der ketolichamen uit vet experimenteel gesteund en aangenomen. In een studie over vet en koolhydraten komt ROSENFELD tot de ontdekking, dat, wanneer een hongerenden hond gedurende één dag veel vet wordt gegeven, hiervan een gedeelte wordt vastgehouden in de lever en wanneer tevens suiker wordt toegediend, dit niet gebeurt; hij meent dit eigenaardig verschijnsel te moeten uitleggen in dien zin, dat door gebrek aan koolhydraten in het voedsel de totale hoeveelheid vet niet kan worden verbrand, en al wordt nochtans een gedeelte verbrand, deze oxydatie niet tot het einde toe plaats grijpt en dat door deze onvolledige verbranding de acetonlichamen ontstaan. Hij meent dat de koolhydraten ongeveer dienst doen als katalysator. „Wir haben das Fett zwar als Brennstoff, nicht aber als Zündstoff anzusehen. Der Zündstoff für die Fette sind die Kohlenhydrate."

Niet alleen de natieve suikers zijn van belang voor deze vetverbranding, doch ook die, welke uit eiwit gevormd zijn. Een diep inzicht in de werkwijze der koolhydraten bij de oxydatie der vetten heeft ROSENFELD ook niet, maar hij meent dat ook wel aan een synthese gedacht moet worden. „Handelt es sich um irgend eine chemische Verbindung zwischen Fetten und Kohlenhydrate, oder sind vielleicht die Kohlenhydrate notwendig, um die Zellen lebenskräftig genug zu machen, dasz sie das Fett bewältigen können, oder besteht irgend ein anderer noch nicht vorherzusehender Zusammenhang?"

Die betrekking tusschen vetten en koolhydraten zou vol-

1) ROSENFELD, G. Fett und Kohlenhydrate. Berl. Klin. Wochenschrift. **29**—978—1906.

gens VON NOORDEN en MOHR wel eens kunnen bestaan in de suikervorming uit vet bij gebrek aan koolhydraten, waarbij dan als bijproduct de acetonlichamen zouden ontstaan, terwijl SPIRO en MAGNUS-LEVY denken dat de acetonlichamen meer tusschenproduct zijn bij den overgang van vet in suiker, doch ook zij slagen er niet in dit met experimenten te bewijzen.

Belangrijke bijdragen betreffende het ontstaan en verdwijnen der acetonlichamen zijn geleverd door Amerikaansche onderzoekers. Onder hen zijn een aantal ijverige voortzetters van het werk van HIRSCHFELD en ROSENFELD, zoodat nu een groot aantal stoffen definitief geclassificeerd zijn als „ketogene" of „antiketogene", om de practische en begrijpelijke benaming der Amerikanen over te nemen.

Natuurlijk zijn het vooral de koolhydraten die de belangstelling hebben getrokken onder de antiketogene stoffen en de synthesetheorie van GEELMUYDEN is het uitgangspunt geworden van belangwekkende onderzoekingen door of onder leiding van WOODYATT, RINGER en SHAFFER.

In een zeer heldere uiteenzetting geeft WOODYATT in 1910 een definitie van antiketogenesis: it is an effect due to certain products which occur in the oxidation of glucose, an interaction between these products on the one hand and one or more of the acetone bodies on the other."

RINGER [1]) stelt in een zeer interessant betoog de hypothese op, dat die diepe oorzaak, zoowel van de hyperglycaemie als van de acidosis, hierin bestaat, dat het glycosidevormend vermogen van glucose is verdwenen. Zooals twee moleculen glucose zich verbinden tot maltose, zoo gaat deze binding verder, totdat ten slotte glycogeen is ontstaan. Als eerste verschijnsel van het verlies van dit bindend vermogen, of beter van de vermindering hiervan, zien we een afname van de vorming van glycogeen, met als gevolg hyperglycaemie en glycosurie. Op nagenoeg dezelfde wijze zou het ß-oxyboterzuur, ontstaan uit vetten en sommige eiwitten, zich ook moeten verbinden met glucose en wanneer nu het glycosidevor-

1) RINGER, A. I. Studies in Diabetes. The Journ. of biol. Chem. 17—107—1914.

mend vermogen nog meer zou afnemen, zou ook de eigenschap van glucose om het ß-oxyboterzuur te binden, zijn verdwenen. Merkwaardig is het, dat veel vroeger GEELMUYDEN[1]) verband zocht tusschen verminderde glycogeenvorming en acidosis! RINGER meent dat de functie van de glucose bij het normale individu, waar het betreft het voorkomen van acidosis, hierin bestaat, dat de glucose verhindert, dat het ß-oxyboterzuur op de gewone wijze wordt geoxydeerd door zich met dit zuur te verbinden, en dat daarbij de intramoleculaire structuur zoodanig wordt gewijzigd, dat bij oxydatie van dit nieuwgevormde complex geen acetonlichamen meer kunnen ontstaan.

Wanneer dus het uit vetten en eiwitten ontstane ß-oxyboterzuur niet op dusdanige wijze aan suiker verbonden wordt doch vrij in het organisme blijft circuleeren, wordt het gemakkelijk geoxideerd tot diaceetzuur en dit wordt verder afgebroken tot aceton.

De theorie door RINGER opgesteld klopt ook met de bevindingen van LEVENE en MEYER die beweren, dat pancreas- of spierextract in staat is glucose tot maltose te maken m.a.w. een glucosidevormende werking heeft.

In een later onderzoek, verricht met door phloricine suikerziek gemaakte honden, komt RINGER, in samenwerking met FRANKEL, tot de meening dat alle aldehyden, hierbij ingesloten glucose, reageeren met ß-oxyboterzuur en wel zoodanig, dat dit zuur niet alleen verdwijnt, doch, zij het dan ook slechts gedeeltelijk, wordt omgezet in glucose. Op deze proefnemingen wordt door SANSUM en WOODYATT [2]) aanmerkingen gemaakt.

Zij zijn van oordeel dat de door RINGER en FRANKEL gevonden z.g.n. extrasuiker, waarop dier theorie gebaseerd is, het gevolg is van glycogeenafbraak en dat hierdoor de veronderstelling van het ontstaan dier extrasuiker uit ß-oxyboterzuur onjuist is. Ook de proeven van FRIEDMANN met

---

1) GEELMUIJDEN, H. C. Uber den Acetonkörpergehalt der Organe an Coma diabeticum Verstorbener nebst Beiträge zur Theorie des Acetonstoffwechsels. HOPPE—SEILER's Zeitschr. f. physiol. Chemie. **58**—255—1908/09.

2) SANSUM, W. D. and WOODYATT, R. T. Studies on the theory of diabetes. The Journ. of Biol. Chem. **21**—1—1915.

kunstmatig doorstroomde levers kloppen niet met de uitkomsten der experimenten van RINGER en FRANKEL, aan wier interpretatie men wel geneigd is te twijfelen, ondanks de tegenwerping, dat er geen vergelijking mag gemaakt worden tusschen onderzoekingen op phloricine-honden en kunstmatig doorstroomde levers.

Hoe uiterst voorzichtig men moet zijn met vergelijkingen, leert nog eens de opmerking van JOSLIN, dat een vastkuur bij gezonden acidosis verwekt, en bij een diabeteslijder integendeel de ketolichamen tot verdwijnen kan brengen.

Misschien zijn wel de onbegrensde mogelijkheden van dierproef en waarneming van den gezonden of zieken mensch de oorzaak, dat men ook getracht heeft door proeven in vitro een inzicht te krijgen in het vraagstuk der acidosis.

WOODYATT meende een overeenkomst te zien in de vitroreacties van suikers in alkalische oplossing en in de processen welke zich in het lichaam afspelen. Onder zijn leiding experimenteerde WITZEMANN [1]) in vitro om na te gaan, hoe de oxydatie van oxyboterzuur, dat hij aanziet voor de moederstof der acetonlichamen, beinvloed kan worden door de meer of mindere alkaliciteit van het milieu en door verschillende hoeveelheden koolhydraat, daarbij steunend op de resultaten van DAKIN en NEUBAUER die, ieder afzonderlijk, hadden gevonden, dat onder sommige omstandigheden de oxydatie van boterzuur, die in vitro meestal verloopt aan het α C-atoom ook kan gebeuren aan het ß C-atoom, waarbij dan producten ontstaan als aceton en waarschijnlijk ook diaceetzuur en ß-oxyboterzuur. De vraag van de verschuiving van de α- naar de ß-oxydatie vermocht WITZEMANN niet op te lossen, doch wel toonde hij aan, dat de aanwezigheid van glucose de reactie van het milieu veranderde en op deze wijze invloed kon uitoefenen op de oxydatie van het boterzuur in dien zin, dat de glucose in staat is deze omzetting van het boterzuur te voorkomen, zoodat geen of minder aceton ontstaat.

1) WITZEMANN, E. J. The effect of variations in the available alkali on the yield of acetone in the oxidation of butyric acid with hydrogen peroxide. The Journ. of Biol. Chem. **35**—83—1918.

SHAFFER [1]) wil het wezen van de antiketogenesis niet zien in een voorkomen van verbranding van het boterzuur, doch in een veranderde oxydatie.

Deze laatstgenoemde onderzoeker kwam tot zeer merkwaardige uitkomsten [2]) [3]) toen hij, in vitro, proeven deed met glucose, diaceetzuur en waterstofperoxyde in een, ten opzichte van physiologische verhoudingen, sterk alkalische omgeving. Hij vond, dat het diaceetzuur in die omstandigheden door het waterstofperoxyde zeer langzaam werd geoxydeerd, doch dat door toevoeging van glucose het diaceetzuur, tegelijk met de oxydatie van de glucose, zelfs bij kamertemperatuur, zeer snel is verdwenen.

De mate van de afbraak van het diaceetzuur neemt toe door verhooging van temperatuur, versterking der alkaliciteit en vermeerdering der toegevoegde glucose. SHAFFER is van oordeel dat de reactie berust op een omzetting van glucose door alkali in een derivaat, dat dan verder geoxydeerd wordt. De veronderstelling is gerechtvaardigd, dat een of ander intermediair oxydatieproduct van glucose wordt gekoppeld aan het diaceetzuur en dat de aldus gevormde verbinding verder wordt geoxydeerd; hij ziet in dit gebeuren een analogie in vitro met de werking van glucose (en van andere antiketogene stoffen) bij het afbreken of het voorkomen van de vorming van diaceetzuur en de verwante stoffen ß-oxyboterzuur en aceton in vivo.

---

1) SHAFFER, PH. A. Antiketogenesis I. The Journ. of Biol. Chem. **47**—433—1921.
2) SHAFFER, PH. A. Antiketogenesis II. The Journ. of Biol. Chem. **47**—449—1921.
3) SHAFFER, PH. A. Antiketogenesis III. The Journ. of Biol. Chem. **49**—143—1921.

HOOFDSTUK II.

OVER HET DOEL VAN HET ONDERZOEK.

Zooals in het voorgaande hoofdstuk is aangegeven, zijn een aantal onderzoekers ter verklaring van het vraagstuk der acidosis tot de veronderstelling gekomen, dat in de normale stofwisseling een verbinding tusschen ketolichamen of hun derivaten en een koolhydraat tot stand komt en dat de vorming van deze verbinding noodzakelijk is voor een volledige verbranding der ketolichamen.

Wanneer deze synthese om de een of andere reden uitblijft, is het onmogelijk voor het organisme de acetonlichamen te verbranden en ontstaat een vermeerdering dier stoffen in het lichaam, eventueel gepaard met uitscheiding in urine of uitademingslucht.

Deze theorie geeft een aannemelijke verklaring van tal van feiten, die zich bij de suikerziekte kunnen voordoen en niet het minst valt dit in het oog, wanneer men haar beschouwt, zooals LAQUEUR en GREVENSTUK [1]) dat doen, in verband met de werking van het insuline.

Zij stellen zich voor, dat één van de werkingen van het insuline is, de bevordering van de synthese van glucose met andere stoffen, in het bijzonder met zuren die in de intermediaire stofwisseling ontstaan, zooals de oxyzuren (acetonlichamen). De meest in het oog loopende verschijnselen van de suikerziekte, de vergrootte hoeveelheid vrije suiker en

---

1) LAQUEUR, E. und GREVENSTUK, A. Insulin, seine Darstellung, physiologische und pharmakologische Wirkung, mit besonderer Berücksichtigung seiner Wertbestimmung. Sonderausgabe aus Ergebnisse der Physiologie. Bd. 23—1925.

acetonlichamen, verdwijnen na toedienen van insuline en geleid door dit voor de behandeling der suikerziekte zoo gewichtige verschijnsel, komen LAQUEUR en GREVENSTUK tot de volgende hypothese: de werking van het insuline bestaat in de vorming van een verbinding tusschen glucose en oxyzuren of hun derivaten; het ontbreken van insuline is de oorzaak van een vermindering dier koppeling bij den lijder aan suikerziekte. Deze hypothese is dus een uitbreiding van de eerstgenoemde, zooals die door GEELMUYDEN, RINGER, SHAFFER en anderen is voorgesteld.

De mogelijkheid om deze hypothesen in een experimenteel onderzoek te betrekken, is tot stand gekomen, toen men er in geslaagd is om verbindingen tusschen koolhydraten en ketolichamen synthetisch te bereiden. In het bijzonder heeft men zich er gedurende de laatste jaren op toegelegd verbindingen te maken tusschen aceton en verschillende suikers, waarbij de glucose ons wel het meeste belang inboezemt.

Het is niet uitgesloten, dat een der verbindingen tusschen koolhydraten en ketolichamen, wier bereiding nu mogelijk is, ten grondslag ligt aan de hypothese ter verklaring van de ketosis en der werking van insuline. Ten aanzien van deze mogelijkheid doen zich een aantal vragen voor:

1°. komen zulke stoffen in de intermediaire stofwisseling voor?
2°. worden deze stoffen in vivo afgebroken?
3°. zoo ja, in welke organen?
4°. is in een der organen iets van een synthese tusschen ketolichamen en koolhydraten vast te stellen?
5°. vervult insuline misschien een taak bij afbraak of vorming dier stoffen?

Het beantwoorden van de eerste vraag is wel buitengewoon moeilijk, zooals aanstonds duidelijk is, wanneer men bedenkt, dat zoowel kwalitatieve als kwantitatieve bepaling dier stoffen in het organisme, en dan in de geringe concentratie die toch denkbaar is bij de stofwisseling, nog ontoereikend kunnen zijn.

Een antwoord op de tweede vraag te geven is aanleiding

geweest tot een onderzoek in het Pharmacotherapeutisch Laboratorium van de Amsterdamsche Universiteit, waarover eenige regels verder een en ander zal worden meegedeeld.

Reeds zij vermeld, dat de dierproeven aantoonden, dat eenige verbindingen tusschen aceton en glucose in vivo worden afgebroken en als vervolg op deze onderzoekingen zal in dit proefschrift getracht worden vraag 3 te beantwoorden, dus na te gaan in welke organen deze afbraak gebeurt.

In aansluiting aan de proeven die hiertoe noodig zijn geweest, heb ik nog eenige experimenten gedaan in betrekking tot de vragen 4 en 5.

Het onderzoek heeft zich uitgestrekt over een aantal organen afzonderlijk, doch reeds van te voren bedenke men, dat een negatief resultaat van proeven aan enkelvoudige organen ook eenige waarde heeft, daar dan wel degelijk rekening moet gehouden worden met de mogelijkheid, dat een samenwerking van eenige organen een positieve uitkomst kan opleveren.

Alvorens de vraagstelling van mijn onderzoek nog scherper te formuleeren en nader toe te lichten, zal ik kort mededeelen de resultaten van een onderzoek, dat LAQUEUR en DINGEMANSE verricht hebben in het Pharmacotherapeutisch Laboratorium van de Amsterdamsche Universiteit, waarbij zij hebben nagegaan, of proefdieren in staat waren de verbindingen monoacetonglucose en diacetonglucose af te breken.

Waar mijn onderzoek dezelfde stoffen betrof, is een vermelding van eenige hunner eigenschappen wel op zijn plaats.

Diacetonglucose, $C_6\ H_8\ O_6\ (C_3\ H_6)_2$ een witte kristallyne stof, is reeds eenige jaren bekend en werd, evenals de monoacetonglucose, het eerst bereid door FISCHER [1]) op de volgende wijze: β-glucose wordt met aceton, waarin 1 % zoutzuur is opgelost, gedurende 96 uur bij kamertemperatuur geschud, waarna de oplossing wordt geneutraliseerd met zilvercarbonaat en wordt ingedampt onder verminderden druk.

De diacetonglucose is gemakkelijk oplosbaar in alcohol,

---

1) FISCHER, E. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. **49**—93—1916.

aceton, chloroform en warmen aether; 1 deel der stof is oplosbaar in 7 deelen kokend water. Het smeltpunt bedraagt 110—111°; na sublimeeren is het smeltpunt 108°. De diacetonglucose is gemakkelijk splitsbaar door zuren; zoo wordt 1 deel door 10 deelen zoutzuur van 0,1 % sterkte bij 100° reeds in een uur tijds volledig in aceton en glucose gesplitst. Diacetonglucose wordt door gistextract of emulsine niet aangetast, evenmin monoacetonglucose.

Diacetonglucose kan, naast α-diacetonfructose, volgens OHLE [1]) ook verkregen worden uit saccharose bij inwerking van aceton, waarin een bepaalde hoeveelheid zwavelzuur is opgelost, door schudden gedurende 24 uur.

Een der acetongroepen wordt door inwerking van $^1/_{10}$ normaal zwavelzuur bij kamertemperatuur bijna momentaan afgesplitst.

Monoacetonglucose, $C_6 H_{10} O_6$ ($C_3 H_6$), een witte kristallyne stof, is eveneens door FISCHER[2]) het eerst bereid. Uitgegaan wordt van diacetonglucose, die in waterige oplossing met een bepaalde hoeveelheid zoutzuur gedurende $1^1/_2$ uur bij 50° wordt geschud. Daarna wordt het zoutzuur neergeslagen met zilvercarbonaat en vervolgens wordt de oplossing onder verminderden druk ingedampt. Door omkristalliseeren uit aethylacetaat wordt de stof zuiver gekregen. Het smeltpunt bedraagt 159°.

Monoacetonglucose is gemakkelijk oplosbaar in alcohol, aceton, chloroform en water, moeilijker in aether. Het wordt eveneens door zuren gemakkelijk gesplitst in aceton en glucose.

Van deze beide acetonglucose verbindingen welke, ook voor mijn proeven, steeds bereidwillig ter beschikking werden gesteld door Dr. OHLE te Berlijn, werd door LAQUEUR en DINGEMANSE de werking bij konijnen en honden onderzocht, waarbij de te onderzoeken stoffen zoowel per os als subcutaan werden toegediend in dosi van 3 tot 6 gram.

1) OHLE, H. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft **58**—1572—1924.
2) FISCHER, E. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft **28**—2496—1895 en **49**—88—1916.

Na de onderhuidsche injectie of het toedienen per os werd het proefdier in een glazen kooi geplaatst, waarna de kooi werd gesloten en slechts openingen bleven bestaan, waardoor een luchtstroom in en uit de kooi kon worden gezogen. Met deze luchtstroom werd de uitgeademde lucht geleid door een serie van waschflesschen, die gedeeltelijk met water waren gevuld. Na eenige uren, wanneer de laatste waschflesch aceton bleek te bevatten, werd het gehalte aan aceton in de waschflesschen bepaald; voortdurend werden de waschflesschen weer vervangen door nieuwe, totdat ten laatste geen aceton meer bleek over te gaan in het water.

Ook in de opgevangen urine werd zoowel het vrije als het gebonden acton bepaald en het onderzoek werd voortgezet totdat er, ook na hydrolyse, geen aceton meer aangetoond kon worden.

Aan een konijn werd per os verstrekt 6 gram diacetonglucose opgelost in water; na 2 uren was reeds 91 m.gr. aceton in de uitgeademde lucht gevonden. In $11^1/_2$ uur werd 374 m.gr. aceton uitgeademd, dit is 14 % van het in den vorm van diacetonglucose toegediende aceton, en toen was de uitademing van aceton nog niet geeindigd. In de gezamenlijke urine, die geloosd werd gedurende de proef (iedere urine portie werd zoo spoedig mogelijk onderzocht), werd 890 m.gr. aceton gevonden; dit is 30 % van de oorspronkelijk toegediende hoeveelheid.

Er zij op gewezen, dat het aceton in de uitademingslucht vrije aceton was, doch in de urine was deze niet aanwezig en behoorde het aceton tot het gebonden aceton, dat eerst vrij kwam door hydrolyse met zuur.

Bij een ander konijn, dat aan een soortgelijk onderzoek werd onderworpen, werd na 54 uren in de uitgeademde lucht gevonden een totaal bedrag van 672 m.gr. vrije aceton, dit is 25 % van het in den vorm van diacetonglucose toegediende aceton, terwijl in de urine 37 % van deze hoeveelheid in gebonden vorm was terug te vinden.

Bij subcutane injectie van een kleinere dosis, bijv. 3 gram

diacetonglucose, werd gedurende 15 uren uitgeademd 194 m.gr. vrije aceton, dit is 14 % van het aceton uit de ingespoten hoeveelheid diacetonglucose, terwijl de urine 26 % bleek te bevatten, doch in gebonden vorm. In de faeces werd geen aceton gevonden na hydrolyse.

Eenzelfde proef werd genomen met een gift van 3 gram diacetonglucose per os en dit leverde dezelfde resultaten.

Bij al deze proeven bleek een niet onbelangrijk gedeelte van de acetonglucose verdwenen, werd althans niet uitgescheiden.

Bij het onderzoek van de acetonglucose in de urine bleek dit volgens zijn chemische en physische eigenschappen geen di-, maar monoacetonglucose te zijn, daar de onderzoekers een product uit de urine isoleerden, dat betreffende het smeltpunt en het acetongehalte met monoacetonglucose overeenkwam. Nu was het reeds bekend, dat in vitro één acetonrest veel gemakkelijker afgesplitst wordt dan de tweede. In vivo was dus blijkbaar een gedeelte van de diacetonglucose verbrand, terwijl een ander gedeelte onder het afgeven van aceton overging in monoacetonglucose, waarvan misschien ook nog een deel verbrand werd.

Werden de proeven genomen met monoacetonglucose per os of subcutaan gegeven, dan bleek de hoeveelheid vrije aceton in de uitgeademde lucht geringer, terwijl het gehalte aan aceton in gebonden vorm in de urine veel hooger was dan bij de analoge proeven met diacetonglucose.

Na een onderhuidsche inspuiting van 3 gram monoacetonglucose werd in de uitgeademde lucht omstreeks 10 % teruggevonden, terwijl de hoeveelheid aceton, welke in de urine verscheen, wisselde tusschen 60 en 80 %.

Bij enkele proeven werd het aceton bepaald dat in het konijn aanwezig was na afloop der proef, doch er bleken slechts zeer geringe hoeveelheden aanwezig te zijn, overeenkomend met waarden, die bij een normaal konijn zijn te verwachten.

Bij kleine honden, van 3 of 4 K.G., werd eenzelfde hoeveelheid der di- en monoacetonglucose in de urine teruggevonden als bij de konijnen.

Uit bovenstaande onderzoekingen blijkt wel, dat het zeer waarschijnlijk is, dat de stoffen diacetonglucose en monoacetonglucose door het levend organisme worden afgebroken. Nu leek het mij wel de moeite waard een onderzoek te verrichten, ten einde na te gaan, in het bijzonder bij diacetonglucose, in welk orgaan de splitsing en verbranding zou kunnen gebeuren.

Voor een stofwisselingsonderzoek is nog steeds, ondanks tal van tegenwerpingen, de doorstrooming van overlevende organen een buitengewoon belangrijke methode van onderzoek, en zeer terecht wordt deze wijze van experimenteeren door tal van onderzoekers in bescherming genomen. THUNBERG [1]) geeft in een opstel over intermediaire stofwisseling en enzymen zeer juist de gedachte weer, die aan deze doorstroomingsproeven ten grondslag liggen: „Bei der Anwendung einer derartigen Ausprobiermethode geht man im allgemeinen von gewissen theoretischen Spekulationen betreffs der wahrscheinlichsten Zwischenglieder einer Reaktionskette aus und führt dann dem Organismus oder dem überlebenden Organ die eine nach der anderen dieser denkbaren Zwischensubstanzen zu. Zeigt es sich dann, dasz eine gewisse der möglichen Zwischensubstanzen rasch und vollkommen umgesetzt wird, so wird dies als ein guter Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür gedeutet, dasz die Substanz in Wirklichkeit ein Glied darstellt, welches der normale Stoffwechsel passiert." Hoewel nu het afbreken van de acetonglucoseverbindingen niet, zooals THUNBERG verlangt, snel en volkomen, doch eerder langzaam en gedeeltelijk plaats heeft, zijn de proeven van LAQUEUR en DINGEMANSE wel een steun voor de mogelijkheid van het voorkomen dier stoffen in de intermediaire stofwisseling. In aansluiting aan hun proeven heb ik aan een aantal overlevende organen doorstroomingen verricht, teneinde na te gaan, waar de afbraak, resp. verbranding der acetonglucosen plaats had.

---

1) THUNBERG, T. Zur Kenntnis des intermediären Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. Skand. Arch. f. Physiologie. **40**—1—1920.

Uit de proeven in vivo, hierboven vermeld, is het wel duidelijk, dat de kans van slagen in mijn onderzoek het grootst zou zijn bij de diacetonglucose en wanneer men daarbij nog in aanmerking neemt, dat deze stof gemakkelijker is te bereiden, en dus te verkrijgen, dan monoacetonglucose, is het verklaarbaar, dat het overgroote deel mijner proeven zijn verricht met diacetonglucose en slechts eenige keeren monoacetonglucose werd onderzocht.

De doorstroomingen werden in het algemeen zoo ingericht, dat het orgaan zoo vlug mogelijk werd verwijderd uit het leeggebloedde dier en in het doorstroomingsapparaat werd gebracht, waarna gedurende twee of meer uren een circulatie werd onderhouden met bloed, waaraan was toegevoegd een bepaalde hoeveelheid acetonglucose.

Wanneer zou blijken, dat na afloop der proef een belangrijke hoeveelheid acetonglucose zou zijn verdwenen, dan mocht dit wel sterk pleiten voor een afbraak dier stof, zonder dat dit evenwel een strikt bewijs zou zijn, daar de acetonglucose, bijvoorbeeld door een chemische binding, niet meer als zoodanig zou zijn aan te toonen met de door ons gebruikte methoden. Afgezien van moeilijkheden bij de doorstrooming, die nader in een hoofdstuk over de methodiek zullen worden beschreven, waren het wel de chemische vraagstukken, die den meesten last veroorzaakten. Voor het kwantitatief aantoonen van de verbindingen mono- en diacetonglucose als zoodanig, in bloed en weefsels, is geen directe methode bekend. Wel gelukt het bij aanwezigheid van betrekkelijk groote hoeveelheden, door langdurige extractie, deze stoffen te isoleeren, doch deze werkwijze komt niet in aanmerking voor een kwantitatieve bepaling, omdat bij de verdere zuivering dezer organische stoffen steeds verlies plaats vindt. Op indirecte wijze kan men nu de hoeveelheid dier stoffen in een oplossing nagaan, door een harer componenten, hetzij aceton of glucose, te bepalen, nadat de verbinding door hydrolyse met zuur is gesplitst.

Dat hiervoor de bepaling van het suikergehalte niet in aanmerking kan komen bij mijn proeven, springt onmiddellijk

in het oog, wanneer men denkt aan het soms hooge gehalte van de vrije suiker van bloed en organen, om niet te spreken van het nog zoo duistere vraagstuk van de gebonden suiker.

Zoo rest niet anders dan de bepaling van het acetongehalte van bloed en weefsels, en het blijkt, zooals bij de beschrijving der methodiek van de chemische onderzoekingen meer uitvoerig zal worden nagegaan, dat onder de omstandigheden der te beschrijven proeven, een bepaling van het aceton, dat door hydrolyse met zuur uit bloed en weefsel wordt vrij gemaakt, een nagenoeg juiste beoordeeling toelaat van het gehalte aan mono- of diacetonglucose, waardoor is na te gaan of deze stof tijdens de doorstrooming verdwijnt.

Bij de vraag, welk orgaan in aanmerking zou komen voor het vermogen om de acetonglucose verbindingen te kunnen afbreken, voelt men zich het allereerst getrokken tot de lever, die men zich zoo gaarne denkt als het middelpunt van de geheele stofwisseling en die zeer zeker in het diabetes vraagstuk een buitengemeen belangrijke plaats inneemt, zoowel waar het betreft de koolhydraten (vorming en afbraak van glycogeen, regeling van het bloedsuikergehalte) als wel de ketonlichamen (een der plaatsen van ontstaan).

In de laatste jaren is veel aandacht besteed aan de functie der nieren in de stofwisseling, en hoe langer hoe meer blijkt dat deze niet gering is. De onderzoekingen door SNAPPER of onder diens leiding verricht, hebben ook bij de bestudeering der ketosis feiten aan het licht gebracht, die een versterking zijn van de waarneming, dat nieren en lever in vele opzichten als elkanders complement zijn te beschouwen. De lever is in staat de hoogere vetzuren aan te tasten en tot ß-oxyboterzuur resp. diaceetzuur te oxydeeren, doch mist nagenoeg geheel het vermogen deze stoffen te elimineeren. Onderzoekingen van SNAPPER en GRÜNBAUM deden zien dat nieren, doorstroomd met boterzuurhoudend bloed nòch β-oxyboterzuur nòch aceton vormden en MENDES DE LEON [1]) stelde vast, dat de nieren

1) MENDES DE LEON, CH. Onderzoekingen over Ketonlichamen. Academisch proefschrift. Amsterdam 1925.

bij doorstrooming met ß-oxyboterzuur wel in staat waren deze stof te verwijderen.

Redenen genoeg om, naast het onderzoek van de lever, de doorstrooming van nieren een belangrijke plaats te geven bij mijn proeven.

De spieren hebben zonder twijfel grooten invloed op de suikerstofwisseling en mogen dus niet in het onderzoek worden vergeten. Technisch was het gemakkelijk om been en huid in het onderzoek te betrekken, hetgeen dan ook gedaan werd, en, in verband met het voorkomen van aceton, niet alleen in de uitademingslucht bij zieken met een ketosis, doch ook bij de proeven in vivo, waarbij den proefdieren acetonglucose werd toegediend, werden ook de longen doorstroomd.

Bijna zonder uitzondering werden de proeven genomen op organen van honden, behoudens voor het onderzoek der nieren, waarvoor de technisch zooveel gemakkelijker te doorstroomen runder- of kalfsnieren werden gebruikt.

Bij de doorstroomingsproeven moet zeer zeker rekening gehouden worden met het al dan niet giftig zijn van de toegevoegde hoeveelheden acetonglucose, doch waar in de proeven van LAQUEUR en DINGEMANSE slechts voorbijgaande verschijnselen van stoornissen in het zenuwstelsel (apathie en misschien verlammingen) voorkwamen bij giften van 6 gram acetonglucose bij een konijn van 2 K.G., mogen wij wel verwachten, dat een dosis van hoogstens 2 gram, zooals in onze proeven gebruikelijk was, verdeeld over ongeveer 750 c.c. bloed en het orgaan, geen belangrijke schade zal aanrichten. Zoo werd, om iets te noemen, nooit een spoor van haemolyse waargenomen. Eenzelfde mogelijkheid van toxische werking deed zich voor bij het onderzoek of een orgaan in staat zou zijn een der acetonglucosen af te breken wanneer een hoeveelheid insuline aan de doorstroomingsvloeistof werd toegevoegd. In den regel werd een naar verhouding zeer groote hoeveelheid van 10 eenheden genomen, waardoor, bij een positieven uitslag der proef, dan ook een uitgesproken resultaat te verwachten zou zijn, doch juist om de theoretisch overigens lastig

aan te nemen en aan te geven giftige werking bij de proef te voorkomen, werden eenige organen doorstroomd met hoeveelheden van 1 of zelfs $^1/_{10}$ eenheid, hetgeen echter geen verandering bracht in de uitkomsten der proefnemingen. Hier zij vermeld, dat steeds gebruikt werd het Nederlandsche product van de N.V. Organon.

Naast proeven teneinde een afbraak van acetonglucose vast te stellen, heb ik een reeks van experimenten genomen ten einde na te gaan, of, volgens de theorie van LAQUEUR en GREVENSTUK, onder invloed van insuline een synthese van acetonglucose tot stand zou komen. Dit nagaan beperkt zich tot het doorstroomen van overlevende lever en nier.

Reeds eerder werd betoogd, dat dergelijke doorstroomingsproeven een belangrijke methode van onderzoek vormen, welke reeds veel resultaten heeft opgeleverd, doch daartegenover staan ook tal van nadeelen, die nog meer naar voren komen, wanneer men, werkend met een stof als insuline, bedenkt, dat aan het uitgesneden orgaan zooveel gemist wordt aan hormon- en zenuwinvloed. Dit viel nog eens sterk op bij het lezen van een publicatie van WERTHEIMER [1]) — die eerst na het beëindigen mijner proeven verscheen — waarbij de invloed van het centrale zenuwstelsel op de vetvorming in de lever en op de acidosis van honden met phloricine-diabetes waarbij het ruggemerg vernield was, kon worden aangetoond.

De inrichting der proeven van deze tweede reeks was in het algemeen als volgt: een zoo versch mogelijk geëxtirpeerd orgaan van een verbloed dier wordt gedurende minstens twee uren doorstroomd met bloed, min of meer verdund met een keukenzoutoplossing en waaraan aceton en insuline is toegevoegd. Na afloop der doorstrooming wordt nagegaan of in bloed en orgaan een vermeerdering van gebonden aceton is aan te toonen. Zou dit het geval zijn, dan was ook de mogelijkheid aanwezig, dat deze gebonden aceton (welke wederom werd onderzocht door hydrolyse met zuur) was ontstaan uit

---

1) WERTHEIMER, E. Regulation des Fettstoffwechsels. Pflüger's Arch. f. die gesammte Physiologie. **213**—262—1926.

de toegevoegde aceton en de steeds in het bloed voorhanden zijnde glucose, onder inwerking van insuline.

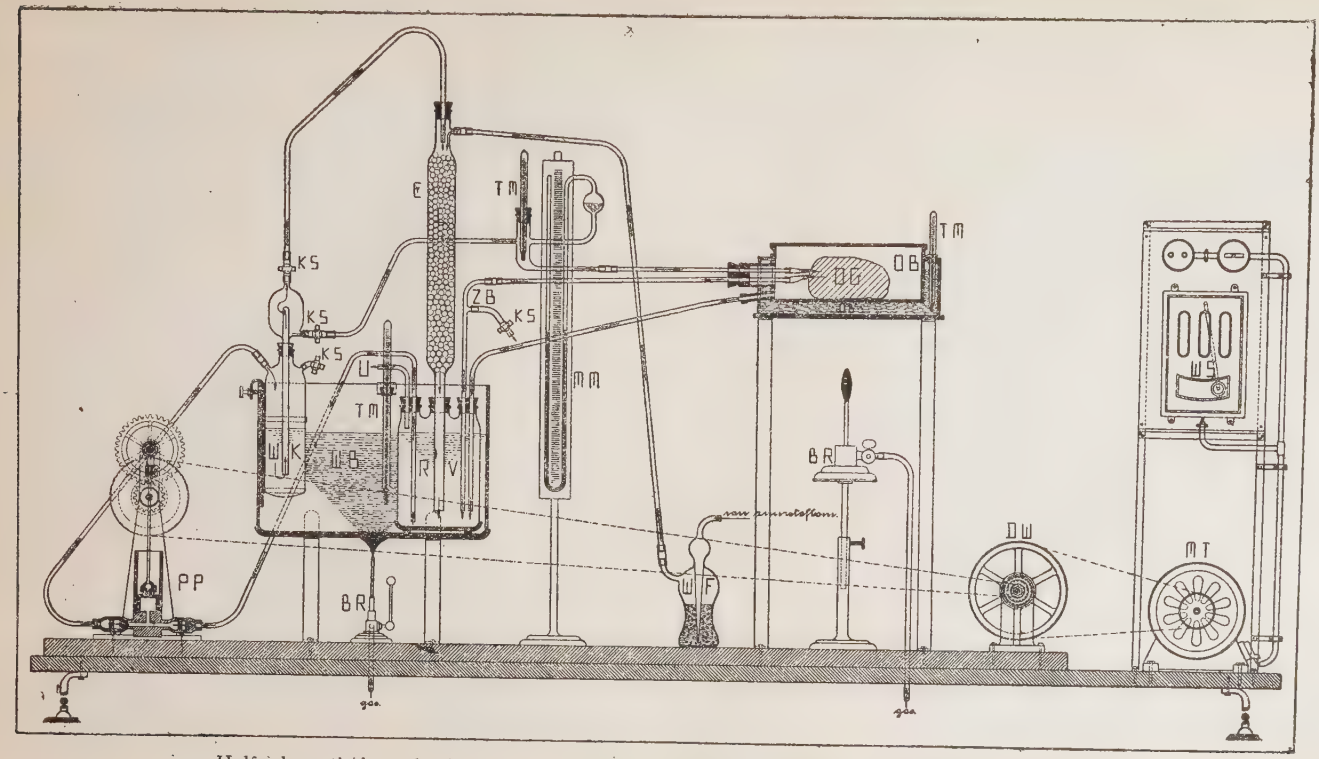
Uit dierproeven o.a. reeds van KUSSMAUL blijkt, welke groote doses aceton nog verdragen worden, zoodat ook in mijn proeven geen vrees behoeft te bestaan voor een sterke vergiftiging van het orgaan door het toegevoegde aceton.

Het chemische onderzoek geschiedde op nagenoeg geheel dezelfde wijze als bij de eerste reeks van proeven.

Het doel van mijn onderzoek neergelegd in dit proefschrift, is kort weer te geven in twee vragen:

1°. Wanneer men een overlevend orgaan doorstroomt met acetonglucose, wordt deze stof dan afgebroken, en zoo niet, gebeurt dit dan misschien onder toevoeging van insuline?

2°. Wanneer men een lever of nier doorstroomt met bloed waarin aanwezig zijn glucose en aceton, vormt zich dan een verbinding tusschen deze stoffen, en zoo niet, gebeurt dit dan misschien onder toevoeging van insuline?



Half-schematische teekening van het eenigszins veranderde doorstroomingstoestel van Embden.

HOOFDSTUK III.

OVER DE TECHNIEK VAN DE DOORSTROOMING.

Voor de doorstrooming van de verschillende organen werd gebruik gemaakt van het toestel van EMBDEN, waaraan eenige kleine wijzigingen werden aangebracht.

Een beschrijving van de eischen, die men aan een doorstroomingsapparaat mag en moet stellen, is te vinden in het door MÜLLER bewerkte hoofdstuk van Abderhalden's Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, waarom ik mij zal bepalen tot een korte beschrijving bij de schematische teekening van het door mij gebruikte toestel, waaraan ik zal toevoegen enkele opmerkingen betreffende de moeilijkheden waarmede ik te kampen heb gehad.

De driemondsche flesch R.V. doet dienst als reservoir waarin de doorstroomingsvloeistof zich bevindt; hiervan gaat een buis naar de zuigperspomp P.P., die een zuigende werking uitoefent aan den kant van het reservoir en de vloeistof perst naar den windketel W.K., die slechts tendeele gevuld is. Door de periodieke druksvermeerdering wordt de vloeistof, die zich in dit vat bevindt, in de stijgbuis opgedreven en zij kan zich nu een uitweg zoeken naar twee zijden:

ten eerste naar de met glasparels gevulde glazen cylinder Cy; deze heeft een zijopening aan den top, waardoor de zuurstof uit een niet op de teekening voorkomende bom aan de doorstroomingsvloeistof kan worden toegevoegd, terwijl een gedeeltelijk met water gevulde waschflesch W.F. is aangebracht ter beoordeeling van de hoeveelheid aangevoerd gas; de cylinder Cy staat in open verbinding met het reservoir

R.V., zoodat de met zuurstof voorziene vloeistof daarin terecht komt;

ten tweede naar het te doorstroomen orgaan O.G., dat geheel afgesloten in den orgaanbak O. B. ligt; in deze leiding is aangebracht een thermometer T.M. en tevens een kwikmanometer M.M.

Het is deze leiding, die aangesloten wordt aan de slagader van het te doorstroomen orgaan, terwijl de vloeistof, welke wordt opgevangen uit de ader, weer naar het verzamelvat R.V. wordt gevoerd, waarmede de kringloop is gesloten.

Aan het verzamelvat is een uitlaatopening U, die dienst doet, om overdruk in dit vat te voorkomen en tevens een weg vormt, waarlangs eventueel ontstaan schuim verwijderd wordt.

Bij de doorstrooming van een orgaan treedt soms oedeem op en het uittredend oedeemvocht, benevens de vloeistof, die uit wonden aan de oppervlakte van het orgaan in den orgaanbak terecht komt, wordt eveneens weer teruggevoerd naar het reservoir.

Windketel en reservoir worden op temperatuur gehouden in een groot waterbad W.B. en ook het orgaan wordt voor afkoeling gevrijwaard in den orgaanbak, die dubbele wanden heeft, waartusschen zich warm water bevindt. De zuigperspomp wordt bewogen door middel van een electromotor M.T. met regelweerstand W.S. en een drijfwiel D.W. om het aantal toeren, dat op de pomp wordt overgebracht, te kunnen regelen.

Bij mijn proeven heb ik steeds gebruik gemaakt van bloed, nu eens eigen bloed van het dier, waarvan het doorstroomde orgaan afkomstig was, dan weer zelfs bloed van een geheel vreemde diersoort; het bloed werd tijdens de afneming gedefibrineerd door kloppen met een glasstaaf of schudden met glasparels, daarna zorgvuldig gefiltreerd door een doek, en vervolgens verdund met physiologische keukenzoutoplossing of RINGER'sche vloeistof. De acetonglucose-verbindingen werden toegevoegd in een oplossing waarbij genoeg chloornatrium aanwezig was om haar isotonisch te maken. Met het

oog op een intensieve doorstrooming is het gewenscht, de hoeveelheid bloed zoo klein mogelijk te nemen, doch zij is natuurlijk zeer afhankelijk van de grootte en den aard van het te doorstroomen orgaan: de kleine, vaste hondenier vergt veel minder dan de gemakkelijk opzwellende lever.

Een groot bezwaar van een beperkte hoeveelheid bloed is, dat van uit het reservoir gemakkelijk schuim wordt meegevoerd in de circulatie, en dit is fnuikend voor een behoorlijk proefbeloop. Wanneer men zorgt, dat er een voldoende laag bloed in het verzamelvat aanwezig is, en dat de buis, die naar de pomp voert geheel tot op den bodem reikt, heeft men geen behoefte aan de door BRODIE aangegeven arteriecanule waaruit men de lucht kan laten ontsnappen, en kan men volstaan met een eenvoudige glazen canule.

Moeilijkheden door stolling heb ik nagenoeg nooit ondervonden; misschien dat het nauwkeurig filtreeren van het bloed en het verwijderen van elk bereikbaar stolsel in de bloedvaten van het orgaan, hiervan de oorzaak is.

Wat betreft den druk, af te lezen op den manometer M.M., deze wordt in den loop van de proef hoofdzakelijk bepaald door den toestand van het orgaan; in den aanvang geschiedt de doorstrooming vlot bij een lagen druk, doch op den duur, o.a. met toenemend oedeem, is een steeds hoogere druk noodig om een behoorlijke doorstrooming te krijgen. Afgezien van weerstanden in de geleidingen, die bij voorkeur uit glas moeten bestaan en slechts waar het noodzakelijk is uit gummi, is de verdeeling van de bloedmassa wanneer zij den windketel verlaat, een groote factor in het bepalen van den druk. Door het meer of minder sluiten van de klemschroef K.S. in den toevoer naar de cylinder Cy is de druk te regelen. Een nadeel is, dat door drukverhooging op deze wijze tevens een vermindering van bloedtoevoer naar den cylinder tot stand komt, waardoor een goede arterialiseering gevaar loopt. Het spreekt vanzelf, dat ook met een versterkte werking van de pomp, die in den regel omstreeks 60 slagen per minuut maakte, een grooten invloed op den druk is uit te oefenen, evenals door een

vergrooting van het slagvolume van de pomp. Bij een oordeelkundig gebruik van deze regelende invloeden op den druk, is in de meeste gevallen wel een goed proefbeloop te verkrijgen, tenzij de weerstand in het orgaan buitengemeen groot is geworden.

De hoeveelheid bloed, welke het orgaan doorstroomt, is sterk afhankelijk van den druk. Zooals gezegd is gaat in den aanvang reeds met lagen druk een groote hoeveelheid bloed door het orgaan, doch allengs is een grootere druk noodig om hetzelfde te bereiken, althans in vele gevallen.

De ideale wijze van doorstrooming zou zonder twijfel zijn wanneer men voor elk orgaan de physiologische waarden voor druk en doorstroomingshoeveelheid zou weten en in zijn proeven zou weten te benaderen.

De snelheid van doorstrooming is te meten door van uit een zijbuis Z.B. van de afvoergeleiding van het orgaan tijdelijk de bloedstroom gedurende een bepaald aantal secunden in een maatglas op te vangen; op een dergelijke wijze kan men ook een indruk krijgen van het „lekken" van het orgaan.

De regeling van de temperatuur eischt bij een doorstroomingsproef voortdurend oplettendheid. Van het grootste belang is, dat de temperatuur van het bloed, gemeten even voor het instroomen van het orgaan, op een juiste hoogte (37°—38°) zij. Om dit te bereiken is het noodig het groote waterbad, waarin reservoir en windketel staan, op ongeveer 45° te verwarmen, doch de benoodigde temperatuur is afhankelijk van tal van wisselende factoren, zooals kamertemperatuur, snelheid van doorstrooming en lengte van de geleidingen. Het zal wel nooit voorkomen de verwarming van het bad te moeten opvoeren tot de voor bloed kritieke temperatuur van 56°. Het water in den dubbelwandigen orgaanbak wordt op 39° gehouden, waarbij de temperatuur van de binnenruimte in den regel een of twee graden lager is.

Bij eenige mijner proeven was de orgaanbak niet groot genoeg om het proefobject te bevatten, en, om een schadelijke afkoeling te voorkomen, werd de geheele opstelling geplaatst

in een broedkamer, die op de vereischte temperatuur was gebracht. Dat de contrôle op waterbad en orgaanbak hierbij vervielen, was slechts een geringe vergoeding voor het verblijf gedurende eenige uren in een onaangenaam laboratoriumvertrek, zooals een broedkamer op 38° toch is, zij het dan ook dat een ventilator eenige verlichting brengt.

Voor de arterialiseering van het bloed wordt als regel zuivere zuurstof gebruikt, doch om de physiologische verhoudingen meer te benaderen, werd door ons gebruikt een mengsel van zuurstof en ongeveer 5 % kooldioxyde. Het mengsel werd in de gebruikelijke ijzeren cylinder gemengd en de samenstelling gecontroleerd met het toestel van HEMPEL voor koolzuurbepaling.

Zooals bij een bestudeering van het schema van de circulatie in het apparaat blijkt, is uitsluitend het onderste gedeelte van den glasparelcylinder voorzien van onvermengd gearterialiseerd bloed, terwijl alleen de afvoer van het orgaan zuiver veneus, en de rest van het systeem een mengsel van arterieel en veneus bloed bevat. Een overeenkomst dus met de foetale bloedsomloop!

Mijn proeven werden, althans grootendeels, verricht met organen van den normalen hond en teneinde deze te bemachtigen werd eenzelfde algemeene techniek gevolgd.

Om den invloed van narcotica te ontgaan, werd de hond, geheel zonder eenige voorbereiding, al dan niet gemuilkorfd, voorgebracht. Met bijzondere zorg werd den achterhoofdknobbel opgezocht en even caudaal hiervan een geladen revolver aangedrukt. Wanneer het dier een oogenblik stilstaat is het schot nagenoeg onfeilbaar. De hond valt onmiddelijk dood neer, waarschijnlijk tengevolge van de verbrijzeling van het verlengde merg, hoewel clonische krampen vooral van de achterste extremiteiten nog eenige minuten kunnen aanhouden, terwijl als regel defaecatie optreedt en slechts zelden urineloozing of ejaculatie. Bij een aantal van bijna vijftig honden, waaronder zeer groote, heb ik slechts drie maal eenige moeite gehad, zoodat een tweede schot

noodzakelijk werd. Onmiddelijk na het neerstorten van den hond werd deze door een of meerdere helpers opgetild aan de achterpooten en boven een op den grond gereedstaande ruime porceleinen schaal, voorzien van glasparels en een glasstaaf, gehouden. Als regel was een der aan het laboratorium verbonden collegae wel beschikbaar en bereid om, terwijl ik den revolver in verzekerden stand opborg, onmiddelijk den hals van het dier met een ruime snede te openen en de halsvaten door te snijden. Mede door drukken op den thorax en massagebewegingen der extremiteiten, wordt uit schotwond en de halsvaten een flinke hoeveelheid bloed gewonnen, zoodat wel van een verbloeding gesproken mag worden. Het aldus verkregen bloed wordt door middel van de gemengde bewerking van kloppen en schudden met glasparels gedefibrineerd en is geschikt om als doorstroomingsvloeistof dienst te doen. Zoo spoedig de hond verbloed is, en zonder uitzondering zijn dan ook de samentrekkingen der willekeurige spieren opgehouden, wordt begonnen met het verlangde orgaan te prepareeren.

Waar de meeste mijner proeven gedaan werden niet alleen om qualitatieve, doch ook om quantitatieve veranderingen vast te stellen, moest ik, vooral bij de spierdoorstroomingen, wel eenigszins afwijken van de gebruikelijke methoden en volledigheidshalve is een korte beschrijving wel op zijn plaats.

De lever. Huidsnede in de mediaanlijn vanaf het strottenhoofd tot aan het bekken, waarna de huid, zoowel van borstkas als buik, zoover mogelijk naar de zijkanten wordt geprepareerd. Daarna verwijdering van het borstbeen met aangrenzende stukken van de ribben, zoodat de borstholte zeer ruim open ligt; vervolgens wordt de buikholte geopend in het midden. Afwijkend van de gangbare opvatting vond ik het voordeelig, dan éérst de nog goed gevulde en zichtbare onderste holle ader vrij te maken van het middenrif en daarna dicht bij het hart, tusschen twee onderbindingen, door te snijden. Voor het onderbinden kan men zeer goed een niet snijdende woldraad gebruiken.

Dan wordt de omgeving van de galblaas zichtbaar gemaakt

door de darmen opzij te houden en de lever naar boven om te klappen,waarna de arteria hepatica, de ductus choledochus en de vena cava inferior beneden de lever, worden onderbonden en doorgesneden. Hetzelfde gebeurt met de vena porta, waarbij men zich niet moet vergissen met een der kleine zijtakken dier ader, welke eveneens worden onderbonden en doorgesneden.

Nu worden alle naar de lever verloopende ligamenten doorgesneden, waarbij gememoreerd moet worden, dat tusschen de rechter nier en de lever een ligament voorkomt, waarin een beduidend bloedvat verloopt; ten laatste knipt men het diaphragma, waarmede de lever nog aan de zijwanden van de lichaamsholte was bevestigd, door. Het is wenschelijk voor het doorsnijden der weefsels eerst een ligatuur aan te leggen, doch tijdens de doorstrooming is een hierbij gemaakte fout gemakkelijk te herstellen door onderbinden of afklemmen. Dit is dan ook de reden dat men beter doet niet te veel tijd te gebruiken voor het nauwkeurig onderbinden bij de extirpatie van de lever, behoudens natuurlijk de uiterste zorg bij het behandelen der groote bloedvaten.

Zoodra de lever uit het lichaam verwijderd is, wordt ze aan een nauwkeurig onderzoek onderworpen, waarbij bijvoorbeeld te groote stukken aanhangend middenrif kunnen worden verwijderd, en daarna worden in de vena porta en de vena cava inferior boven de lever, canules aangebracht; deze moeten zoo ruim mogelijk genomen worden en ver in de richting van de lever worden opgeschoven, ten einde zijtakken te ontgaan. De galblaas wordt niet verwijderd al was het slechts om geen onnoodig defect in de leverserosa te krijgen. Het oogenblik van de wegneming van een proefstukje van de lever kan willekeurig genomen worden en hangt af van het doel van het onderzoek; vooral bij het bepalen van glycogeen speelt het tijdsverloop van den dood van den hond tot het fixeeren van het glycogeen een groote rol. De sneevlakte van een dergelijk proefstuk kan tijdens de doorstrooming nogal eens moeilijkheden opleveren door de bloeding. Het aanbrengen

van een of meerdere arterieklemmen is soms afdoende, doch in andere gevallen is men genoodzaakt de bloeding te stelpen door dichtschroeien of moet men zelfs zijn toevlucht nemen tot het onderbinden van de geheele betrokken leverkwab. Bij de doorstrooming wordt de vena porta gebruikt als aanvoerend bloedvat; de vena cava blijft eveneens in zijn functie als afvoerend vat.

De nier. Bij den hond is deze gemakkelijk te bereiken van uit een mediane buiksnede. Canules worden gebracht in de arteria renalis, de vena renalis en bovendien in den ureter. Een sterke bloeding tengevolge van het verwijderen van het perirenale vet zag ik niet. Bij de doorstrooming kan men meestal uit den ureter een op urine gelijkend bloederig vocht opvangen. Waar de doorstrooming van een hondennier technisch vrij lastig is, werd herhaaldelijk gebruik gemaakt van een kalfsnier, die veel minder bezwaren geeft. Dank zij de groote medewerking van de directie en het personeel van het Amsterdamsche abattoir, was het mogelijk binnen zeer korten tijd de nieren van een kalf, tijdens het vervoer op de juiste temperatuur gehouden in een flesch met warme physiologische keukenzoutoplossing in een hooikist, benevens het gedefibrineerde bloed van hetzelfde dier, in het laboratorium te krijgen.

De longen. De borstholte wordt geopend zooals bij de extirpatie van de lever is aangegeven.

Vervolgens wordt de trachea zoo hoog mogelijk doorgesneden en daarna de arteria aorta, zoo dicht mogelijk bij het hart. Voorzichtig worden hart en longen tezamen uit de borstholte verwijderd. Door een kleine snede in de linkerkamerwand wordt een canule gebracht door het ostium atrioventriculare tot in den linker boezem; eveneens wordt een canule geschoven door den rechter kamerwand tot in de sinus arteriosus van de longslagader. Met eenig beleid en vooral stomp werkend, zijn de canules voldoende te bevestigen.

Het spreekt vanzelf, dat de canule naar de arteria pulmonalis in de doorstroomingsproef als slagader dienst doet. Door

middel van een door een metronoom geregelde electromagnetische afsluiting werd een zeer zwakke luchtstroom onderbroken en aldus een ademhaling eenigszins nagebootst, doch na ruim één uur doorstrooming traden de verschijnselen op van longoedeem, zoodat met deze wijze van zuurstofvoorziening gestaakt werd en de arterialisatie uitsluitend onderhouden werd op de ook bij de andere proeven gebruikelijke manier.

De doorstrooming der longen gaat reeds zeer vlot bij een geringen druk.

De spieren. Op verschillende wijzen werd getracht een aantal spieren te doorstroomen en als regel werden de spieren van de achterste pooten van een hond daarvoor genomen, behoudens oriënteerende proeven op konijnen. Een juiste afgrenzing van het te doorstroomen spiergebied is lastig, doch was voor mijn proeven ook niet strict noodig, zooals zal blijken uit de verdere beschrijving.

Technisch zeer gemakkelijk te prepareeren is een doorstrooming van uit de arteria femoralis, waarbij het bloed wederom wordt opgevangen uit de vena femoralis. Een der achterpooten van den hond wordt vanaf den bekkenrand tot aan den voet ontdaan van de huid. Daarna worden arteria en vena femoralis opgezocht en over enkele centimeters vrij gelegd en vervolgens voorzien van canules. Nu wordt het been geëxarticuleerd in het heupgewricht, waarbij men grof te werk kan gaan en zich niet behoeft te storen aan de anatomie der spieren, want ter hoogte van het gewricht kwetst men spieren, die toch niet van uit de vrij laag ingebonden arteriecanule worden doorstroomd.

Na deze bewerking wordt de voet afgezet, daar deze nogal moeite oplevert met de lastig te verwijderen huid en nagels en het ingewikkelde beenderstelsel. Hierbij worden natuurlijk eenige bloedvaten doorgesneden, die wel in het stroomgebied komen te liggen, doch men kan zich de onaangename bloedingen besparen door het ondereinde van den stomp stevig af te binden.

Op deze wijze werkend krijgt men een spier- en beenderpreparaat dat in de gebruikelijke orgaankast past. Een nadeel is, dat slechts een betrekkelijk kleine groep van spieren, die van het onderbeen, doorstroomd worden en dat aan het bovenbeen nog een aantal spieren geheel of gedeeltelijk blijven zitten, die, en het is tijdens en na de doorstrooming duidelijk zichtbaar aan de bleeke kleur, niet in de circulatie betrokken zijn. Toch werden deze, na afloop der proef, met de zonder twijfel doorstroomde spieren, zorgvuldig van het bot verwijderd en voor het onderzoek te samen vermengd, gemalen en onderzocht, terwijl ook de beenderen een soortgelijke bewerking ondergingen, daar het bleek dat de bloedstroom ook steeds in het bot was doorgedrongen.

Niet geheel tevreden over deze doorstroomingsproef werd een grooter gebied uitgekozen en daartoe werd getracht een circulatie te krijgen vanuit de aorta abdominalis. Ter hoogte van het ondereinde van het borstbeen wordt een volledige circulaire huidsnee gemaakt en tevens een mediane snede over den buik, die zich voortzet over de voorvlakte van iederen achterpoot. Nadat genitalia externa en anus omsneden zijn wordt de huid van de achterste helft van het dier afgestroopt, waarbij de voeten op dezelfde wijze behandeld worden als boven beschreven werd. Daarna wordt de buik geopend in de mediaanlijn en het rectum, vlak boven den anus, dicht gebonden; vervolgens wordt de anus geheel vrij geprepareerd en met rectum en colon descendens, eveneens vrijgemaakt, naar boven omgeslagen. Nadat de blaas zoonoodig door punctie is geledigd, wordt deze met de genitalia verwijderd.

Vervolgens worden de arteria aorta en de vena cava inferior opgezocht en van canules voorzien; de slagader even boven de vertakking naar de beenslagaders, de ader iets hooger. Dan worden de spieren en de andere lagen van den buikwand doorgesneden ter hoogte van den derden lumbaalwervel, waarna met het beenmes voor een volledige scheiding van de twee gedeelten van het cadaver wordt zorg gedragen, bij voorkeur tusschen tweeden en derden lendenwervel. Op deze wijze

heeft men een preparaat gekregen van de spieren en beenderen van nagenoeg de geheele achterste lichaamshelft. Bij de doorstrooming van dit complex is het van belang de verdunning van het bloed niet groot te nemen: een verdunning met 10—15 % bleek wel het meest geschikt en in den regel is daarmede een doorstrooming gedurende twee uren wel te bereiken, doch bij een langere proefneming wordt de doorgankelijkheid der weefsels voortdurend minder en treedt een belangrijk oedeem op. De bloedingen uit de doorgesneden buikspieren en uit de wonden, noodzakelijk voor de extirpatie van rectum en urogenitaalapparaat, blijven in den regel binnen de perken. Hetzelfde geldt voor de bloedingen uit de verscheurde huidvaten, waarvan de belangrijke nog gemakkelijk te stelpen zijn door vaatondervinding; natuurlijk kan men ook dezelfde proef doen zonder de huid te verwijderen, waardoor men een bron van bloedingen ontgaat, doch de proef, ook het chemische gedeelte, meer ingewikkeld maakt.

Voor deze proeven zijn kleine honden zeer geschikt, omdat in dit geval de gewone orgaankast voldoende ruimte biedt en men een verblijf in een broedkamer kan ontloopen.

HOOFDSTUK IV.

OVER HET CHEMISCHE ONDERZOEK.

De belangrijkste opgave voor het chemische onderzoek bij de proeven was het bepalen van de hoeveeheid acetonglucose. Reeds in het voorgaande hoofdstuk werd er op gewezen, dat er geen methode bekend is voor een directe kwantitatieve bepaling van acetonglucose en ook, dat onder de omstandigheden, waaronder de proeven in dit proefschrift vermeld verliepen, het niet mogelijk zou zijn, het gehalte aan die verbinding vast te stellen door gebruik te maken van suikerbepalingen na hydrolyse met een zuur. Zoowel het bloed als verschillende organen bevatten zóóveel suiker, in welken vorm dan ook, dat aan een geringe vermeerdering of vermindering, mogelijk veroorzaakt door vorming of afbraak van een kleine hoeveelheid acetonglucose, zeker geen waarde mag gehecht worden. Vooral valt dit op bij doorstroomingen van de lever, waarbij men heeft rekening te houden met eventueel aanwezig glycogeen, dat in een uitgesneden orgaan zoospoedig uiteen valt.

Zoo werd, om een voorbeeld te geven, bij een der doorstroomingsproeven gevonden:

suikergehalte van het verdunde bloed: . . . . . 0.69 $^0/_{00}$
suikergehalte van de lever: . . . . . 17.2 $^0/_{00}$
glycogeengehalte van de lever: . . . . . 30.5 $^0/_{00}$

Het bloedsuikergehalte werd bepaald onmiddellijk voor de doorstrooming, terwijl de lever zoo vlug mogelijk na den dood van den hond in onderzoek genomen werd.

Na twee uren doorstrooming leverde het onderzoek het volgende resultaat op:

suikergehalte van het verdunde bloed: . . . . . 25.2 $^0/_{00}$
suikergehalte van de lever: . . . . . 12.9 $^0/_{00}$
glycogeengehalte van de lever: . . . . . 8.4 $^0/_{00}$

De suikerbepalingen geschiedden volgens HAGEDORN en JENSEN [1]), de glycogeenbepalingen volgens de methode van ANNA GOLDFEDEROVÀ [2]).

Opmerkelijk is het enorme suikergehalte van het bloed na de doorstrooming. Zonder twijfel is dit voor een groot deel afkomstig van het glycogeen van de lever, dat dan ook sterk verminderd is, doch mogelijk komen er ook nog andere bronnen voor in aanmerking, waardoor dan eenvoudige kwantitatieve berekeningen niet meer op gaan.

In deze proef bestaat ook een vrij belangrijk verschil tusschen de totale hoeveelheid suiker voor en na de doorstrooming, waarbij het glycogeen omgerekend werd tot glucose.

	voor	na
glucose in het bloed	690 m.gr.	13688 m.gr.
glucose in de lever	12298 „	14512 „
glucose van leverglycogeen	20215 „	8760 „
	33203 „	36960 „

Er bestaat een verschil van 3757 m.gr., of ongeveer 10 %.

Bij bovenstaande getallen bedenke men, dat het gehalte aan suiker, dat overeenkomt met de toegevoegde acetonglucose in de betrokken proef, verdeeld over bloed en lever, nog geen $^1/_2$ $^0/_{00}$ zou bedragen!

Zoo moeten wij ons wel wenden tot en genoegen nemen met de bepaling van de acetoncomponent, nadat de acetonglucose door hydrolyse met een zuur onder kookhitte is gesplitst.

---

1) HAGEDORN, H. C. und JENSEN, B. NORMAN. Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid. Biochem. Zeitschr. **46**—135—1923.

2) GOLDFEDEROVÀ, A. Glycogeenbepaling door LAUFBERGER geciteerd in het Zeitschr. f. exp. Medizin. **42**—601—1924.

Wil men in bloed of weefsel een toegevoegde hoeveelheid acetonglucose kwantitatief aantoonen, dan ligt het voor de hand, dit onderzoek als volgt in te richten:

1°. bepalen van de hoeveelheid vrije aceton.

2°. hydrolyseeren van de acetonglucose door verhitten op kooktemperatuur onder toevoegen van een zuur.

3°. bepalen van het dan vrij gekomen aceton.

Het spreekt van zelf, dat men de zekerheid moet hebben, dat de eerste acetonbepaling niet op eenigerlei wijze beinvloed wordt door de acetonglucose en dat de bepaling van het aceton na hydrolyse slechts dan een aanwijzing kan zijn voor de hoeveelheid acetonglucose, indien er in het te onderzoeken bloed resp. weefsel geen andere verbindingen aanwezig zijn, die in staat zijn door de genoemde bewerking een acetonreactie te geven.

In mijn proeven was het een vereischte te beschikken over een methode, waarbij niet alleen het vrije aceton (dus ook het terwille van het experiment toegevoegde) kan worden bepaald, doch evenzeer het gebonden aceton, zij het dan na splitsing.

Allereerst werd onderzocht of de methode van ENGFELDT voor ons doel geschikt zou zijn, doch in een aantal proeven werden weinig bevredigende resultaten verkregen. Reeds onze zeer hooge waarden in de blanco proeven weken af van hetgeen anderen (MENDES DE LEON, ENGFELDT) gevonden hadden en toen de contrôle-bepalingen nogal wisselende uitkomsten gaven, werd deze methode verlaten.

Van de acetonbepaling volgens VAN SLIJKE-FITZ, die met zich brengt een zeer nauwkeurige en vooral tijdroovende werkwijze, werd afgezien, daar mijn proeven aanleiding zouden geven tot vrij talrijke analyses, waarbij een te kort aan beschikbaren tijd een onoverkomelijke hinderpaal zou vormen.

Wel heb ik ter contrôle van de hierna aan te geven methode eenige analyses uitgevoerd met de door SNAPPER en GRÜNBAUM verbeterde methode van VAN SLIJKE-FITZ, waarover later meer.

Er waren drie overwegingen, die mij deden besluiten gebruik te maken van een eenvoudiger methode, die berust op het principe van de bepaling van aceton volgens MESSINGER-HUPPERT in het destillaat van bloed of weefsel en waarbij niet alleen aceton resp. diaceetzuur werd bepaald, doch eenvoudig het totaal aan joodbindende stoffen, waarbij deze als aceton werden berekend.

1°. het is niet noodig een methode te gebruiken, die ook geschikt is voor acetonbepalingen in kleine hoeveelheden bloed of weefsel, daar voldoende materiaal aanwezig is.

2°. het is niet noodig een methode te gebruiken, waarbij zeer kleine hoeveelheden aceton nog nauwkeurig kunnen worden bepaald, daar in mijn proeven zoowel de acetonglucose als het aceton in vrij groote hoeveelheden voorkomen.

3°. bij het gebruik van de vrij groote hoeveelheden acetonglucose en aceton zal een kleine hoeveelheid van een of meerdere andere joodbindende stoffen geen afbreuk doen aan de waarde van de resultaten.

Met voorbijgaan van de bepalingen van aceton volgens ENGFELDT, VAN SLIJKE-FITZ en MARRIOTT, die beurtelings als de meest juiste genoemd worden, werd gebruik gemaakt van onderstaande methode, waarmede het betrekkelijk eenvoudig is, om het vrije en gebonden aceton, met een voor mijn doel voldoende nauwkeurigheid, te bepalen.

BESCHRIJVING DER METHODE.

I. *Bepaling van vrije aceton.*

In een destilleerkolf van 2 Liter inhoud worden 25 à 50 c.c. bloed of 25 à 50 gram gemalen weefsel vermengd met 150 c.c. gedestilleerd water en gedurende minstens 15 minuten verhit, waarbij de schuimvorming beperkt wordt door toevoegen van een kleine hoeveelheid talk. De kolf wordt verbonden met een koeler waardoor koud water wordt geleid teneinde de doorstroomende gassen te condenseeren. De gecondenseerde vloeistof wordt opgevangen in een ERLEMEYER-kolf,

welke, door middel van een dubbel doorboorden stop, eveneens met den koeler verbonden is.

Door de tweede opening in den stop is een omgebogen glazen buis aangebracht, die direct in verbinding staat met een gedeeltelijk met water gevulde waschflesch. Dit laatste dient om eventueel in de ERLEMEYER-kolf niet gecondenseerde aceton hier nog op te vangen. De ERLEMEYER-kolf wordt in een bak met ijs en water geplaatst om de condensatie der gassen zooveel mogelijk te bevorderen.

Om het soms zeer hinderlijke schuimen te ontgaan en meer nog om eventueele oververhitting in de kolf te voorkomen, werd reeds vrij spoedig overgegaan tot het doorleiden van stoom door de vloeistof, hetgeen in staat bleek het aceton mee te voeren en waardoor het koken vervangen werd. Nadat de stoom gedurende 15 à 20 minuten was doorgeleid werd de inhoud van de waschflesch kwantitatief overgebracht in de ERLEMEYER-kolf, die dan goed gesloten wordt weggezet voor het later volgend onderzoek.

II. *Bepaling van gebonden aceton.*

Wederom wordt een ERLEMEYER-kolf met waschflesch aan het destilleerapparaat verbonden en nu wordt door de te onderzoeken vloeistof gedurende 30 minuten stoom geleid, nadat eerst 10 c.c. zwavelzuur van 25 % zijn toegevoegd. De vloeistof in waschflesch en ERLEMEYER-kolf worden op dezelfde wijze samengevoegd als bij het eerste destillaat is aangegeven en vervolgens worden beide destillaten, of een bepaald deel daarvan, getitreerd volgens MESSINGER-HUPPERT.

Deze titratie berust op het vormen van jodoform en azijnzuur uit aceton bij inwerking van jodium in alkalisch milieu.

De reactie verloopt als volgt:

I. $2\ Na\ OH + J_2 = Na\ OJ + NaJ + H_2O$.

II. $CH_3\ COCH_3 + 3\ Na\ OJ = HCJ_3 + CH_3\ COONa + 2\ NaOH$.

Eén molecuul aceton verbruikt dus 3 moleculen natriumhypojodiet, waarvoor 6 atomen jodium noodig zijn. Door toevoegen van een overmaat van zuur wordt alle jodium,

behoudens de 6 atomen die verbruikt zijn volgens bovenstaande formule, weer vrijgemaakt volgens de volgende vergelijking:

$$Na\ OJ + NaJ + H_2\ SO_4 = J_2 + Na_2\ SO_4 + H_2O.$$

De titratie wordt als volgt uitgevoerd:

aan het destillaat, of een bekend deel ervan, wordt toegevoegd 10 c.c. 25 % natronloog en tevens een nauwkeurig afgemeten hoeveelheid jodium in overmaat. Deze overmaat is te zien, doordat een enkele druppel zuur een voorbijgaande bruine wolk teweeg brengt wanneer men dien druppel in het destillaat laat vallen.

Al naar mate de te verwachten hoeveelheid aceton gebruike men een oplossing van $^1/_{100}$ normaal of $^1/_{10}$ tot $^1/_{20}$ normaal jodium.

Het jodoform vormt zich snel als een witte troebeling en kenmerkt zich aanstonds door zijn reuk, terwijl de troebeling later overgaat in helgele kristallen.

Na 10 minuten voegt men een overmaat van 25 % zwavelzuur toe, hetgeen men bereikt, door na het verschijnen van een blijvende bruine verkleuring nog ongeveer 2 c.c. toe te voegen. Daarna titreert men het onverbruikte jodium, de oorzaak van de bruine verkleuring na de zuurtoevoeging, terug, met een oplossing van natriumthiosulfaat van ongeveer dezelfde normaliteit als de gebruikte jodium, waarbij een 1 % zetmeeloplossing dienst doet als indicator. Het verschil tusschen oorspronkelijk toegevoegde en later teruggevonden jodium geeft door een eenvoudige berekening de hoeveelheid aceton aan; 1 c.c. jodium $^1/_{10}$ normaal komt overeen met 0,967 m.gr. aceton.

Schmitz[1]) geeft een overzicht van de meening van een aantal onderzoekers dezer titratie, welke over het algemeen gunstig is. Natuurlijk is het gebruik van zuivere chemicaliën noodzakelijk, hoewel kleine hoeveelheden verontreinigingen met een joodbindende stof wel onschadelijk zijn te maken door een voortdurend gebruik van blinde proeven.

---

1) Schmitz, E., Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden Abt. IV, Teil 5, Heft 2, Lieferung 119—1924.

Dat een veelvuldige bepaling der sterkte van de titreervloeistoffen, en vooral van de sterk verdunde, noodzakelijk is, spreekt vanzelf, en, dat een zoo nauwkeurig mogelijke bepaling van de sterkte van de thiosulfaatoplossing een allereerste eisch is, zal wel gebleken zijn uit de beschrijving der methode, terwijl evenzeer duidelijk is, dat men zich met een benadering van de concentratie van de jodiumoplossing mag tevreden stellen. Aangestipt moet nog worden, dat men geen genoegen mag nemen met een enkele bepaling, doch dat overeenstemmende resultaten van minstens twee proeven vereischt zijn.

Zooals reeds vermeld is, werden tal van contrôles verricht om de juistheid der gebruikte methode te toetsen. Allereerst geef ik hier een onderzoek weer, waarbij werd nagegaan of een bepaalde hoeveelheid aceton toegevoegd aan weefselbrij, werd teruggevonden met een voldoende nauwkeurigheid. Daartoe werd een aantal destillaties en titraties verricht.

I. destillaat van 200 c.c. aq. dest. + 10 c.c. jodium $^1/_{10}$ normaal = 10,10 c.c. natriumthiosulfaat $_1/_{10}$ normaal.

II. destillaat van 5 gr. nierbrij in 200 c.c. aq. dest. + 10 c.c. jodium $^1/_{10}$ N. = 10,00 c.c. thio $^1/_{10}$ N.

III. destillaat van 5 gr. nierbrij in 200 c.c. aq. dest. met 3,5 m.gr. aceton + 10 c.c. jodium $^1/_{10}$ N. = 6,45 thio $^1/_{10}$ N.

In 5 gr. nierbrij bedraagt de hoeveelheid aceton (10,10 — 10,00) × 0,976 m.gr. = 0,0976 m.gr.

Per K.G. zou dit zijn 19,52 m.gr., een bedrag, dat vrij hoog is, doch waarbij men moet bedenken, dat de nier reeds eenige dagen oud was. Bovendien werd in dit geval getitreerd met thiosulfaat oplossing van $^1/_{10}$ normaal sterkte (toevallig precies $^1/_{10}$ N.!) waar, bij een dergelijke kleine hoeveelheid, een gedeelte van een druppel reeds een procentsgewijs groot verschil kan doen ontstaan.

Van de 3,5 m.gr. aceton, welke toegevoegd waren aan 5 gr. nierbrij, is teruggevonden (10,00 — 6,45) × 0,976 m.gr. = 3,46 m.gr.

Er bestaat dus een verlies van ruim 1 %, een resultaat, dat natuurlijk zeer bevredigend is.

Dat de wijze van onderzoek ook bruikbaar is voor het bepalen van acetonglucose in weefselbrij blijkt wel uit andere analoge proeven.

Eerst werden blanco proeven verricht, waarbij de joodbinding bepaald werd van een destillaat van 5 gr. nierbrij gesuspendeerd in 300 c.c. aq. dest, en waaraan 10 c.c. zwavelzuur 25 % waren toegevoegd.

Vervolgens werd deze proef herhaald, doch met toevoegen van 15 m.gr. diacetonglucose.

15 m.gr. diacetonglucose moeten theoretisch bevatten $\frac{15 \times 116}{260} = 6{,}69$ m. gr. aceton.

Het verschil in verbruikte jodium, toegevoegd in een oplossing van $^1/_{10}$ N. bij de genoemde proeven, gaf een hoeveelheid aceton, ontstaan uit de toegevoegde acetonglucose, van 6,49 m.gr.

Het verschil tusschen berekende en gevonden aceton bedraagt dus omstreeks 3 %.

Een zelfde onderzoek werd verricht met 5 gr. nierbrij waaraan 15 m.gr. monoacetonglucose waren toegevoegd.

15 m.gr. monoacetonglucose moeten theoretisch bevatten $\frac{15 \times 58}{220} = 3{,}94$ m.gr. aceton, waarvan bij onderzoek 3,8 m.gr werden teruggevonden. Hier is dus eveneens een verschil van omstreeks 3 %.

Van talrijke organen is voor en na hydrolyse het gehalte aan joodbindende stoffen bepaald en tevens is herhaaldelijk nagegaan of toevoegen van acetonglucose aan bloed of weefsel ook een verandering teweeg bracht in het gehalte aan vrije aceton. Dikwijls werd ook een analyse gemaakt zoowel van het onverdunde gedefibrineerde bloed, als wel van het verdunde bloed dat als doorstroomingsvloeistof dienst moest doen, waarbij bleek, dat de te verwachten waarden aan vrije aceton goed overeenstemden.

Nogmaals zij er met nadruk op gewezen, dat de naam acetonbepaling eigenlijk niet juist is, maar beteekent: joodbindende stoffen omgerekend op aceton. Kortheidshalve zal echter steeds gesproken worden over aceton, terwijl ook van destillaat en destilleeren gesproken zal worden indien gebruik is gemaakt van het overstoomen van aceton.

Bij de bepaling van vrije en gebonden aceton zonder toevoeging van aceton resp. acetonglucose werd gebruik gemaakt van jodium- en thiosulfaat-oplossingen van $^1/_{100}$ normaal sterkte, doch, indien aceton of acetonglucose was toegevoegd, werden oplossingen genomen van een sterkte van $^1/_{10}$ tot $^1/_{20}$ normaal.

Als voorbeeld volgen hier eenige getallen van de analyse van de stoffen welke werden onderzocht bij de doorstrooming van een spiercomplex met bloed, dat verdund was met verdunde Ringersche vloeistof en waaraan was toegevoegd een bepaalde hoeveelheid diacetonglucose.

Uitgegaan werd hierbij van een blancobepaling, waarbij het joodbindende vermogen van een destillaat van 200 c.c. aq. dest. met $^1/_{100}$ normaal jodium oplossing werd bepaald en van een tweede destillaat, nadat 10 c.c. zwavelzuur 25 % waren toegevoegd, met $^1/_{20}$ normaal jodium oplossing.

Onderzoek van het normale, gedefibrineerde bloed zonder zuurtoevoeging:

1e destillaat van 5 c.c. bloed in 200 c.c. aq. dest. geeft een verbruik van 0,8 c.c. jodium $^1/_{100}$ N. Berekend per Liter bloed geeft dit $200 \times 0{,}8 \times 0{,}0967 = 15{,}5$ m.gr. aceton.

In 1 L. onverdund, gedefibrineerd bloed is dus 15,5 m.gr. vrije aceton aanwezig.

Onderzoek van het normale gedefibrineerde bloed na hydrolyse door zuurtoevoeging;

de vloeistof, die zoo juist één maal aan destillatie is onderworpen, wordt na toevoegen van 10 c.c. zwavelzuur wederom gedestilleerd:

2e destillaat van 5 c.c. bloed in 200 c.c. aq. dest. met 10 c.c. zwavelzuur blijkt geen jodium (gebruikt wordt nu

$^1/_{100}$ N. oplossing) te binden. In het normale, gedefibrineerde bloed blijkt dus geen gebonden aceton aanwezig te zijn.

Onderzoek van normale spier zonder zuurtoevoeging:

1e destillaat van 5 gr. spier in 200 c.c. aq. dest. geeft een verbruik van 0,65 c.c. jodium $^1/_{100}$ N. Per K.G. spier geeft dit 200 × 0,65 × 0,0967 = 12,6 m.gr. vrije aceton.

Onderzoek van de normale spier na zuurtoevoeging; de vloeistof, zoo juist één maal aan destillatie onderworpen, wordt, na toevoegen van 10 c.c. zwavelzuur 25 %, wederom gedestilleerd:

2e destillaat van 5 gr. spier in 200 c.c. aq. dest. met 10 c.c. zwavelzuur blijkt geen jodium (gebruikt wordt $^1/_{100}$ N. oplossing) te verbruiken. In de normale spier blijkt dus geen gebonden aceton aanwezig te zijn.

Onderzoek van gedefibrineerd bloed gemengd met $^1/_3$ van de hoeveelheid verdunde Ringersche oplossing, waaraan is toegevoegd diacetonglucose:

1e destillaat van 5 c.c. bloed in 200 c.c. aq. dest. geeft een verbruik van 0,4 c.c. jodium $^1/_{100}$ N. Berekend per L. verdund bloed geeft dit 7,72 m.gr. vrije aceton en omgerekend per L. onverdund bloed 11,4 m.gr.

Wanneer men zich herinnert dat in 1 L. onverdund gedefibrineerd bloed in deze proeven werd gevonden 15,5 m.gr. vrije aceton, ziet men, dat de verdunning met Ringersche vloeistof en toevoegen van diacetonglucose geen belangrijken invloed heeft gehad op het gehalte aan vrije aceton; het verschil van enkele milligrammen tusschen de twee gevonden waarden is wel te wijten aan de onnauwkeurigheid der methode voor geringe hoeveelheden.

Onderzoek van gedefibrineerd bloed gemengd met $^1/_3$ van de hoeveelheid verdunde Ringersche oplossing, waaraan is toegevoegd diacetonglucose, na zuurtoevoeging;

de vloeistof zoo juist één maal aan destillatie onderworpen, wordt, na toevoegen van 10 c.c. zwavelzuur 25 %, wederom gedestilleerd:

2e destillaat van 5 c.c. bloed in 200 c.c. aq. dest. met

10 c.c. zwavelzuur geeft een verbruik van 8,75 c.c. jodium $^1/_{20}$ N. Berekend per Liter gaf dit 817 m.gr. gebonden aceton, dat in deze proef zeer zeker geheel berust op aceton uit diacetonglucose.

Volgens het uit het toegevoegde gewicht berekende aantal m.gr. moest 815 m.gr. gevonden worden, zoodat hier een fraaie overeenkomst bestaat.

Na afloop der doorstrooming kan op geheel dezelfde wijze als hierboven beschreven is, het gehalte aan vrije en gebonden aceton bepaald worden in bloed, weefsels en excretie-producten. Ik meen te kunnen volstaan met te verwijzen naar de tabellen mijner proeven in het volgende hoofdstuk. Reeds nu wil ik er op wijzen, dat de nauwkeurigheid der uitkomsten bij de proeven het recht geven te veronderstellen, dat de methode, waarop ik het aceton voor en na hydrolyse bepaalde, volkomen gewettigd is, hetgeen bovendien nog blijkt uit de contrôleproeven volgens SNAPPER en GRÜNBAUM, waar het betreft acetonbepaling na hydrolyse.

In de later te beschrijven proeven en in tal van andere niet vermeldde, werd de hoeveelheid vrije en gebonden aceton in bloed en weefsels bepaald; vooral op het gehalte aan vrije aceton was van invloed het feit, dat de organen en het bloed soms verscheidene dagen in de ijskast bewaard moesten worden voor het onderzoek kon plaats hebben.

Eens vond ik dat een nier in het geheel geen vrije aceton bevatte en daarnaast vond ik een hooge waarde van 27 m.gr. per K.G. lever. Als gemiddelde waarde zou, met de door mij gebruikte methode waarmede huid, spier, nier, lever, been, long en bloed werden onderzocht, zijn aan te geven 15 m.gr. per K.G.

Ook werden eenige organen onderzocht op gebonden aceton, dus aceton ontstaan na inwerking van zuur bij kooktemperatuur. Meestal bleek dit niet aanwezig te zijn, doch een enkele maal werd een kleine hoeveelheid gevonden, waarbij als hoogste waarde 13 m.gr. in een K.G. bloed werd aangetoond.

Als bewijs voor de betrouwbaarheid en nauwkeurigheid der

bepaling van het gebonden aceton, dat, behoudens soms enkele milligrammen, geheel op rekening der toegevoegde acetonglucose moet geschreven worden, geef ik hieronder eenige cijfers uit mijn proeven, waarbij de gebonden aceton, bepaald door destillatie na hydrolyse op de beschreven wijze, en de aceton, berekend uit de toegevoegde bekende gewichtshoeveelheid diacetonglucose aan de gebruikte hoeveelheid verdund bloed (meestal $^3/_4$ tot 1 L.), worden vergeleken.

gevonden in het destillaat.	afgewogen hoeveelheid.
878 m.gr.	880 m.gr.
711 „	703 „
595 „	619 „
992 „	1000 „
637 „	640 „
743 „	741 „
538 „	541 „

Een dergelijke vergelijking is zeer goed uit te voeren met stoffen als de acetonglucosen, doch is moeilijker voor toegevoegd aceton, omdat men dan rekening heeft te houden met de snelle verdamping dier stof. Toch waren de resultaten wel bevredigend, zooals uit onderstaand lijstje zal blijken.

gevonden in het destillaat.	afgewogen hoeveelheid.
529 m.gr.	552 m.gr.
290 „	305 „
238 „	244 „
50 „	48 „

De overeenstemming is groot genoeg om een steun te geven aan de door mij gebruikte acetonbepaling en in de proeven zal dan ook uitsluitend vermeld worden de waarden, door destillatie verkregen.

Merkwaardig is zeer zeker, dat bij de destillatie in den regel iets lagere waarden gevonden werden, zoowel voor gebonden als toegevoegde vrije aceton, dan volgens de weging verwacht werd.

Hierin kan men wel een bewijs zien, dat bij de gebruikte acetonbepaling geen groote rol gespeeld wordt door andere

joodbindende stoffen, die natuurlijk als aceton in het totaal worden opgenomen.

Ook in waterige oplossingen der acetonglucoseverbindingen wordt in den regel slechts 97—98 % dier stoffen teruggevonden en dit kan zeer wel berusten op kleine verontreinigingen die geen acetonreactie geven.

Door Prof. SNAPPER en Dr. GRÜNBAUM[1]) is een methode uitgewerkt om een zuivere acetonbepaling te doen, waarbij dus andere joodbindende stoffen totaal worden geëlimineerd. Dank zij een door mij op hoogen prijs gestelde welwillendheid der bewerkers dier methode, was het mogelijk met deze nieuwe werkwijze eenige contrôlebepalingen te doen reeds voor de methode gepubliceerd werd, waarbij is gebleken, dat in mijn proeven de invloed van joodbindende stoffen naast aceton niet van beteekenis is en tevens, dat de uitkomsten van de bepaling volgens de door mij gevolgde methode en die volgens SNAPPER en GRÜNBAUM, betrekkelijk weinig verschillen.

Hier volge een korte beschrijving van de laatstgenoemde methode.

Het destillaat van bloed of weefselsuspensie wordt na toevoeging van natronloog en waterstofperoxyde voorzichtig verhit aan een terugvloeikoeler. De joodbindende stoffen, behalve aceton, worden op deze wijze gedestrueerd, waarna eventueel nog aanwezige joodbindende stoffen uitgeschakeld worden door verhitten met een vloeistof van de samenstelling als FEHLING's proefvocht. Vervolgens wordt het aceton afgedestilleerd en het destillaat verder verwerkt volgens de methode van VAN SLIJKE-FITZ.

Met deze methode van SNAPPER en GRÜNBAUM werd, naast de gebruikelijke werkwijze, het gebonden aceton bepaald o.a. bij nierdoorstroomingen, waarbij bloed, nierweefsel en gevormde urine werden onderzocht.

Hieronder volgen de cijfers welke gevonden werden, hoewel enkele bepalingen niet in tweevoud zijn geschied.

---

1) SNAPPER, I und GRÜNBAUM A. Uber die Methodiek der β-oxybuttersäurebestimmung in Leber und Muskeln. Bioch. Zeitschr. **175** — 357 — 1926.

Nierdoorstrooming met bloed en diacetonglucose.

gewone methode	SNAPPER en GRÜNBAUM
voor de doorstrooming:	
in 875 c.c. bloed 710,7 en 710,7 m.gr.	704,3 en 704,3 m.gr.
na de doorstrooming:	
in 740 c.c. bloed 543,8 en 550,9 m.gr.	571,6 en 573,1 m.gr.
in de nier 54,8 en 57,4 m.gr.	54,5 en 57,1 m.gr.
in de urine 92,8 m.gr.	85,3 m.gr.

Nierdoorstrooming met bloed en monoacetonglucose.

gewone methode	SNAPPER en GRÜNBAUM
voor de doorstrooming:	
in 750 c.c. bloed 362,8 en 362,8 m.gr.	360 en 363 m.gr.
na de doorstrooming:	
in het bloed 343,7 m.gr.	351 en 355 m.gr.
in de nier 20,3 en 19,5 m.gr.	15,3 m.gr.

HOOFDSTUK V.

EIGEN PROEVEN EN SAMENVATTING.

Ten einde een antwoord te kunnen geven op de vragen gesteld en uitvoerig toegelicht in hoofdstuk II, werden twee reeksen van doorstroomingsproeven genomen.

In de eerste reeks werd een antwoord gezocht op de vraag of een verbinding acetonglucose bij de doorstrooming van een orgaan werd ontleed, waarbij tevens werd nagegaan of deze afbraak misschien tot stand zou kunnen komen onder invloed van insuline. Daartoe werden verscheidene organen en weefsels doorstroomd met verdund bloed, waaraan was toegevoegd een der bekende verbindingen tusschen glucose en aceton waarvoor, om reeds aangegeven redenen, in de meeste gevallen diacetonglucose gebruikt werd.

In hoofdstuk IV is er reeds op gewezen, dat zoowel bloed als verschillende organen niet dan kleine hoeveelheden joodbindende stoffen bevatten. Daarom was het voldoende in mijn proefnemingen vóór de doorstrooming een kwantitatieve bepaling te verrichten van de aan het bloed toegevoegde acetonglucose, en deze hoeveelheid gebonden aceton te vergelijken met de som der hoeveelheden gebonden aceton in bloed en doorstroomend orgaan na afloop der proef. De enkele milligrammen gebonden aceton, die men mogelijk in het weefsel voor en na de doorstrooming zou kunnen vinden, zouden toch geen noemenswaarde invloed kunnen uitoefenen op het resultaat van de proefneming, in aanmerking genomen de vrij groote hoeveelheid, eenige honderden milligrammen, gebonden aceton die aan het bloed werd toegevoegd. Dit is dan ook de

reden, dat enkele malen wegens gebrek aan weefsel het orgaan niet vóór de doorstrooming werd onderzocht.

De uitvoerige beschrijving van de techniek der doorstroomingsproeven en van het chemische onderzoek zullen de korte en overzichtelijke tabellen waarin de proeven vermeld worden wel voldoende begrijpelijk doen zijn.

Een enkele bijzonderheid verdient echter nog wel een nadere uiteenzetting. Een bron van fouten bij de berekening van de geheele hoeveelheid acetonglucose na de proef zou kunnen schuilen in het verlies van vocht tijdens de doorstrooming. De voornaamste factoren zijn hiervoor het morsen en het verdampen, afgezien van afneming van bloed voor tusschentijdsch onderzoek. De eerstgenoemde reden van vochtverlies, het morsen, zal natuurlijk zeer wisselend zijn, doch wordt bij een betere techniek voortdurend kleiner. Het verdampen van vocht heb ik herhaaldelijk kunnen nagaan o.a. in proeven zonder orgaan; bij de voor ons gebruikelijke proefopstelling bedraagt deze zeker niet veel meer dan 10 c.c.

Bij de berekening in onderstaande proeven werd met het vochtverlies geen rekening gehouden. In het toestel werd een nauwkeurig afgemeten hoeveelheid doorstroomingsvloeistof gedaan en het orgaangewicht werd eveneens voor de proef bepaald, eventueel na extirpatie van een proefstukje.

De vermeerdering van het gewicht van het orgaan na de doorstrooming werd toegeschreven aan de toename tenkoste van de doorstroomingsvloeistof, wier hoeveelheid berekend werd, door evenveel c.c. van de aanvangshoeveelheid af te trekken als het orgaan in grammen toegenomen was.

De vloeistof die door morsen niet gedurende den geheelen proefduur aan de circulatie had deelgenomen, werd beschouwd als dit wel te hebben gedaan en, was tijdens de doorstrooming de noodzakelijkheid gebleken om bijv. een leverkwab af te binden ten einde een bloeding te stelpen, dan werd dit gedeelte ook als gelijkwaardig beschouwd met de rest van de lever en gezamenlijk gemalen en onderzocht.

In opzettelijke proeven is gebleken dat de verbindingen

mono- en diacetonglucose zelfs bij kooktemperatuur niet vluchtig zijn en dat van verdamping bij onze proefopstelling wel geen sprake is; dit in tegenstelling met aceton, zooals later nog wel besproken zal worden.

Na deze ophelderingen volgen de beschrijvende tabellen van eenige mijner proeven.

Tabel I.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondelever* met een vloeistof bestaande uit $^4/_5$ runderbloed en $^1/_5$ physiologische keukenzout oplossing.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			70	50	60	60
Hoev. bloed per min. in c.c.			240	240	270	280
Temp. bloed in gr. C.			37^5	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C.			45	45	45	45
Temp. orgaankast in gr. C.			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c.	1000				900
	vrije aceton in m.gr.	8				17
	gebonden aceton in m.gr.	3				4
Lever	gewicht in gr.	400				500
	vrije aceton in m.gr.	3				6
	gebonden aceton in m.gr.	1				2
Som vrije aceton in bloed en lever in m.gr.		11				23
Som gebonden aceton in bloed en lever in m.gr.		4				6

Uit de doorstroomingssnelheden in de tabel aangegeven (hoeveelheid per min. in c.c.) is door een eenvoudige berekening (het product van de gemiddelde hoeveelheid c.c. die per

min. door de lever stroomt en het aantal minuten van den proefduur, gedeeld door het aantal c.c. bloed bij den aanvang) het aantal keeren te benaderen, dat de oorspronkelijke hoeveelheid bloed de lever gepasseerd heeft; in dit geval is dit ruim 31 maal.

Er bestaat een geringe vermeerdering van vrije aceton in bloed en orgaan, hetgeen in overeenstemming is met de analoge proeven van EMBDEN, FRIEDMANN en MENDES DE LEON. De zeer kleine toename van de gebonden aceton heeft bij de door ons gebruikte methode van bepaling slechts een geringe waarde, doch leert, dat van een belangrijke toename wel geen sprake is.

De uitkomsten van deze proef, die dus overeenkomen met hetgeen andere onderzoekers gevonden hebben, zijn wel een steun voor de meening, dat de door ons gebruikte acetonbepaling wel nauwkeurig genoeg is voor ons doel.

De proef vermeld in tabel I, de doorstrooming van een normale lever met normaal bloed, is als blancoproef natuurlijk van groot belang voor het verdere onderzoek. Dit is dan ook de reden, dat zij eenige keeren herhaald werd en steeds met een gelijksoortige uitkomst, zooals bijv. onderstaande verkorte tabel laat zien:

		voor	na
Bloed	hoeveelheid in c.c.	1000	900
	vrije aceton in m.gr.	12	24
	gebonden aceton in m.gr. . . .	0	4
Lever	gewicht in gr.	350	450
	vrije aceton in m.gr.	1	3
	gebonden aceton in m.gr. . . .	0	0

Tabel II.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondelever* met een vloeistof bestaande uit $^3/_4$ mengsel van honde- en paardebloed en $^1/_4$ keukenzoutoplossing waaraan was toegevoegd *diacetonglucose*.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			20	30	20	20
Hoev. bloed per min. in c.c. . .			140	180	200	140
Temp. bloed in gr. C..			35	36^5	37	37
Temp. waterbad in gr. C.. . . .			43	44	45	45
Temp. orgaankast in gr. C. . .			38	38	38	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	950				820
	gebonden aceton in m.gr..	1121				748
Lever	gewicht in gr.	257				387
	gebonden aceton in m.gr.					355
Som gebonden aceton in lever en bloed in m.gr.		1121				1103

Het bloed heeft de lever bijna 21 maal doorstroomd. Uit een vergelijking der totale hoeveelheid gebonden aceton voor en na de proef blijkt, dat er een verlies bestaat van 18 m.gr.; dit is nog geen 2 % van de oorspronkelijk aanwezige hoeveelheid.

Een dergelijk gering percentage kan natuurlijk nog binnen de foutengrens der bepalingen liggen, zoodat in deze proef geen diacetonglucose behoeft te zijn gesplitst.

Hier en in volgende proeven wordt alle gebonden aceton gerekend te ontstaan uit de toegevoegde acetonglucose. Dit is natuurlijk onjuist, doch zooals zal blijken, is de hoeveelheid gebonden aceton, niet berustend op acetonglucose, in tal van proeven zeer gering bevonden, waardoor de invloed op het totaal niet noemenswaard is. Met het oog op de eenvoudigheid der berekeningen wordt deze kleine fout volgehouden.

Een fout van ongeveer dezelfde grootte wordt gemaakt, wanneer om de een of andere reden het gehalte aan gebonden aceton in een orgaan voor de proef niet bepaald wordt en dus ook niet in rekening kan worden gebracht.

Tabel III.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondelever* met een vloeistof bestaande uit $^3/_4$ runderbloed en $^1/_4$ keukenzoutoplossing waaraan was toegevoegd *monoacetonglucose*.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			35	20	20	18
Hoev. bloed per min. in c.c. .			240	180	200	220
Temp. bloed in gr. C.			37	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C.			46	45	45	45
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1100				950
	gebonden aceton in m.gr.	612				403
Lever	gewicht in gr.	275				425
	gebonden aceton in m.gr.					174
Som gebonden aceton in lever en bloed in m.gr.		612				577

Het bloed heeft de lever bijna 23 maal doorstroomd. Bij deze proef werd gewerkt met wat reeds eerder genoemd werd: een gesloten systeem. De waschflesschen gevuld met gedestilleerd water, die aan de uitlaatopening werden verbonden, bleken geen aceton te bevatten, ook niet na hydrolyse met zuur.

Hieruit blijkt wederom dat in de gebezigde proefvoorwaarden de monoacetonglucose niet vluchtig is.

In deze proef bestaat een verlies van 35 m.gr. gebonden aceton d.i. ongeveer 5 %.

Tabel IV.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondelever* met een vloeistof bestaande uit $^4/_5$ runderbloed en $^1/_5$ keukenzout-

oplossing waaraan zijn toegevoegd *diacetonglucose* benevens 10 eenheden *insuline*.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			50	54	60	80
Hoev. bloed per min. in c.c.. .			180	200	220	200
Temp. bloed in gr. C.			37^5	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C. . . .			46	45	46	46
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. . .	1000				900
	gebonden aceton in m.gr.	878				685
Lever	gewicht in gr.	275				360
	gebonden aceton in m.gr.					155
Som gebonden aceton in lever en bloed in m.gr.		878				840

Het bloed heeft de lever 24 maal doorstroomd.

Er is volgens de cijfers uit de tabel een verlies aan gebonden aceton van 38 m.gr. d.i. ruim 4 %.

Bij deze proef zijn ook bepalingen van het acetongehalte verricht volgens SNAPPER en GRÜNBAUM, van welk onderzoek ik slechts de uitkomsten vermeld. Het bloed vóór de doorstrooming bevat 855 m.gr. gebonden aceton, terwijl na de doorstrooming lever en bloed respectievelijk 184 en 672 m.gr. bevatten, zoodat volgens deze wijze van onderzoek een vermeerdering van 1 m.gr. gebonden aceton gevonden wordt.

Niet alleen is het van belang erop te wijzen dat het verschil in uitkomst niet bijzonder groot is (men mag bij dergelijke bepalingen toch wel een foutengrens van 5 % aannemen), doch tevens, dat bij de bepaling volgens onze gebruikelijke methode, die joodbindende stoffen aantoont, een kleinere waarde wordt gevonden dan bij de contrôlebepaling

volgens SNAPPER en GRÜNBAUM, die een zuivere acetonbepaling is.

Ook hier is gewerkt met een gesloten systeem en de waschflesschen bevatten geen vrije noch gebonden aceton, zoodat in de gebezigde proefvoorwaarden de diacetonglucose niet vluchtig is.

Tabel V.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *kalfsnier* met een vloeistof bestaande uit $^4/_5$ bloed van het zelfde dier en $^1/_5$ physiologische keukenzoutoplossing.

		begin	½	1	1½	2
Duur der proef in uren						
Druk in m.M. kwik.			80	70	70	80
Hoev. bloed per min. in c.c. .			200	200	190	180
Temp. bloed in gr. C.			37	37	37	37
Temp. waterbad in gr. C. . . .			45	45	45	45
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1000				550
	vrije aceton in m.gr. .	5				3
	gebonden aceton in m.gr.	4				2
Nier	gewicht in gr.	750				1200
	vrije aceton in m.gr. . .	7				16
	gebonden aceton in m.gr.	4				6
Urine	hoeveelheid in c.c. . .					10
	vrije aceton in m.gr. .					0
	gebonden aceton in m.gr.					0
Som vrije aceton in bloed, nier en urine in m.gr. . . .		12				19
Som gebonden aceton in bloed, nier en urine in m.gr. . . .		8				8

Het bloed heeft de nier bijna 23 keer doorstroomd. Het eenige wat in deze tabel opvalt, is een zeer geringe vermeerdering van vrije aceton in de nier na de doorstrooming.

Nogmaals zij er op gewezen dat de gebezigde bepaling van aceton niet nauwkeurig wil wezen tot op enkele milligrammen doch, evenals bij de genoemde proeven der lever, zijn de uitkomsten van deze nierdoorstrooming een versterking der meening, dat de wijze van onderzoek voldoende zal zijn voor onze verdere proeven.

De proef van tabel V werd eenige malen herhaald en steeds met nagenoeg dezelfde resultaten, zooals ook blijkt uit onderstaande verkorte tabel.

		voor	na
Bloed	hoeveelheid in c.c.	1250	950
	vrije aceton in m.gr.	6	7
	gebonden aceton in m.gr.	4	3
Nier	gewicht in gr.	700	1000
	vrije aceton in m.gr.	5	10
	gebonden aceton in m.gr.	5	7

Er werd ongeveer 12 c.c. urine gevormd, waarin slechts een spoor vrije aceton was aan te toonen.

Tabel VI.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *rundernier* met een vloeistof bestaande uit $^4/_5$ bloed van hetzelfde rund en $^1/_5$ keukenzoutoplossing waaraan is toegevoegd *diacetonglucose.*

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			80	70	50	30
Hoev. bloed per min. in c.c. .			120	80	110	140
Temp. bloed in gr. C.			36^5	37^5	37^5	37
Temp. waterbad in gr. C. . . .			45	45	46	46
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. . .	1100				900
	gebonden aceton in m.gr.	882				404
Nier	gewicht in gr. . . .	675				875
	gebonden aceton in m.gr.					474
Som gebonden aceton in bloed en nier in m.gr.		882				878

Het bloed heeft de nier ongeveer 13 keer doorstroomd.

Tijdens de proef werd uit de ureter 2 c.c. bloederig vocht (urine?) afgescheiden, die niet werden onderzocht.

Er is een verlies van 4 m.gr. gebonden aceton dus minder dan $^1/_2$ %.

Van bloed en nier werd zoowel vóór als na de doorstrooming het gehalte aan vrije aceton bepaald en er werd gevonden:

1100 c.c. bloed voor de doorstrooming bevatten 9 m.gr. vrije aceton; 900 c.c. na de doorstrooming 5 m.gr.; 675 gr. nier voor de doorstrooming bevatten 10 m.gr. vrije aceton; 875 gr. na de doorstrooming 5 m.gr.

Er is dus een geringe vermindering van vrije aceton zoowel in de nier als in het bloed, doch bij de gebruikte methode mag niet te veel waarde gehecht worden aan de kwantitatieve bepaling van zeer kleine hoeveelheden aceton.

Tabel VII.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondenier* met een vloeistof bestaande uit ongeveer $^4/_5$ bloed van denzelfden

hond en $^1/_5$ keukenzoutoplossing waaraan is toegevoegd *diacetonglucose*.

		begin	½	1	1½	2
Duur der proef in uren						
Druk in m.M. kwik			220	200	240	260
Hoev. bloed per min. in c.c. .			80	80	60	40
Temp. bloed in gr. C.			37	37	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C. . . .			49	48	49	49
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. . .	875				740
	gebonden aceton in m.gr.	711				547
Nier	gewicht in gr.	55				90
	gebonden aceton in m.gr.	0,5				56
Urine	hoeveelheid in c.c. . .					100
	gebonden aceton in m.gr.					93
Som gebonden aceton in nier, bloed en urine in m.gr.		711				696

Het bloed heeft de nier ongeveer 9 maal doorstroomd.

Er is een verlies aan gebonden aceton van 15 m.gr., dit is bijna 2 %.

Ook hier werden contrôle bepalingen gedaan volgens SNAPPER en GRÜNBAUM; de juiste getallen zijn reeds vermeld op blz. 49, zoodat hier slechts zij aangegeven, dat met deze methode het bloed voor de doorstrooming bevatte 704 m.gr. gebonden aceton en dat in nier, bloed en urine na de doorstrooming resp. 56, 572 en 85 m.gr. gevonden werd, waaruit dus een toename van 10 m.gr. of ruim 1 % bleek.

Evenals bij proef III vindt men een vrij goede overeenstemming tusschen onze methode en die van SNAPPER en GRÜNBAUM, waarbij de laatste ook nu wederom de hoogste waarde oplevert.

Ook werd het gehalte aan vrije aceton bepaald en er bleek een vermindering na de doorstrooming te bestaan, die mogelijk iets verminderd kon worden door de vrije aceton der urine, welke bepaling echter verloren ging.

Tabel VIII.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondenier* met een vloeistof bestaande uit ongeveer $^2/_3$ bloed van denzelfden hond en $^1/_3$ keukenzoutoplossing waaraan zijn toegevoegd *diacetonglucose* benevens 10 eenheden *insuline*.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			300	310	310	290
Hoev. bloed per min. in c.c. .			35	20	18	20
Temp. bloed in gr. C.			36^5	36^5	36^5	36^5
Temp. waterbad in gr. C. . . .			47	48	48	47
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	750				730
	gebonden aceton in m.gr.	595				567
Nier	gewicht in gr.	30				50
	gebonden aceton in m.gr.					38
Urine	hoeveelheid in c.c. .					2
	gebonden aceton in m.gr.					2
Som gebonden aceton in bloed, nier en urine in m.gr.		595				607

Het bloed heeft de nier nauwelijks 4 maal doorstroomd.

Er bestaat een vermeerdering van gebonden aceton van 12 m.gr. of van 2 %.

Merkwaardig is, dat naast deze vermeerdering van gebonden aceton, een toename bestaat aan vrije aceton in het bloed, zooals bij geen andere proef werd gevonden, n.l. van 16 m.gr. in 750 c.c. tot 46 m.gr. in 730 c.c. bloed.

De vrije aceton was in de nier voor de doorstrooming afwezig, terwijl na de doorstrooming 1 m.gr. gevonden werd.

De toevoeging van insuline heeft geen toename gegeven van de splitsing van gebonden aceton.

Tabel IX.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *rundernier* met een vloeistof bestaande uit $^7/_8$ bloed van hetzelfde dier en $^1/_8$ oplossing van *diacetonglucose* in water waaraan is toegevoegd $^1/_{10}$ eenheid *insuline*.

		begin	½	1	1½	2
Duur der proef in uren						
Druk in m.M. kwik			150	140	160	150
Hoev. bloed per min. in c.c. . .			280	300	320	300
Temp. bloed in gr. C.			37	37	37	37
Temp. waterbad in gr. C. . . .			46	45	45	45
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1250				910
	vrije aceton in m.gr. .	0				9
	gebonden aceton in m.gr.	520				279
Nier	gewicht in gr.	585				910
	vrije aceton in m.gr.	6				9
	gebonden aceton in m.gr.	3				246
Urine	hoeveelheid in c.c. .					15
	vrije aceton in m.gr.					0
	gebonden aceton in m.gr.					3
Som vrije aceton in bloed, nier en urine in m.gr.		6				18
Som gebonden aceton in bloed, nier en urine in m.gr.		523				528

Het bloed heeft de nier bijna 29 maal doorstroomd.

Aan de uitlaatopening werden twee waschflesschen, gedeeltelijk met water gevuld, verbonden, die na 2 uren samen 0,2 m.gr. gebonden aceton bleken te bevatten.

Er bestaat een vermeerdering van gebonden aceton van 5 m.gr. of ongeveer 1 %, terwijl ook het vrije aceton met eenige milligrammen is toegenomen.

Tabel X.

Doorstrooming gedurende 2 uren van de *longen* van een hond met een vloeistof bestaande uit $^4/_5$ runderbloed en $^1/_5$ Ringer'sche vloeistof waaraan is toegevoegd *diacetonglucose*.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			60	50	40	35
Hoev. bloed per min. in c.c.			60	70	80	100
Temp. bloed in gr. C.			37^5	37	36^5	36^5
Temp. waterbad in gr. C.			46	47	47	47
Temp. orgaankast in gr. C.			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c.	750				555
	gebonden aceton in m.gr.	637				437
Long	gewicht in gr.	55				250
	gebonden aceton in m.gr.					196
Som gebonden aceton in bloed en long in m.gr.		637				633

De longen werden ongeveer 12 maal door het bloed doorstroomd.

Er bestaat een verlies aan gebonden aceton van 4 m.gr. of ongeveer $^1/_2$ %.

Ook bedroeg het totaal aan vrije aceton enkele milligrammen minder na de doorstrooming.

Een dergelijke proef werd nog eens gedaan. De longen van een hond werden doorstroomd gedurende 2 uren met een

vloeistof bestaande uit $^3/_4$ runderbloed en $^1/_4$ keukenzoutoplossing waaraan was toegevoegd diacetonglucose.

Voor de doorstrooming bevatte het bloed 871 m.gr. gebonden aceton; na de proef werd in het bloed 613 m.gr. en in de longen 247 m.gr. gevonden, zoodat er een verlies bestaat van 11 m.gr. of nog geen 2 % van de oorspronkelijke hoeveelheid.

Tabel XI.

Doorstrooming gedurende 2 uren van *skelet* en *spieren* van de achterste lichaamshelft van een hond met een vloeistof bestaande uit $^8/_9$ hondebloed van een ander dier en $^1/_9$ van een oplossing van *diacetonglucose* in water.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			100	100	80	60
Hoev. bloed per min. in c.c. . .			70	60	80	80
Temp. bloed in gr. C.			36^5	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C. . . .			46	47	47	47
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	750				660
	gebonden aceton in m.gr.	992				625
Spier	gewicht in gr.					300
	gebonden aceton in m.gr.					245
Been	gewicht in gr.					220
	gebonden aceton in m.gr.					132
Som gebonden aceton in bloed, spier en been in m.gr.		992				1002

Het bloed doorstroomt het lichaamsdeel ruim 13 maal.

Er is een vermeerdering van gebonden aceton van 10 m.gr. of 1 %.

Het verdient opmerking, dat het gehalte aan vrije aceton na de doorstrooming niet buitensporig hoog was:
26 m.gr. in 660 c.c. bloed; dit is meer dan in andere proeven werd gevonden;
13 m.gr. in 300 gr. spier;
4 m.gr. in 220 gr. been.

Het gewicht van been en spier afzonderlijk voor de doorstrooming is niet nauwkeurig te bepalen; een schatting van het gewicht der spieren zou men kunnen krijgen door het gewicht van het niet-doorstroomde praeparaat te verminderen met dat van het doorstroomde been, daarbij aannemend, dat dit door de doorstrooming niet noemenswaard veranderde.

Een dergelijke proef werd nog eens gedaan, doch toen was gedurende het tweede uur van de doorstrooming de gemiddelde snelheid per minuut van 80 c.c. gedaald tot 10 c.c.

Waar de doorstrooming in dit geval niet voldoet aan de eischen die ik meende te moeten stellen om te kunnen spreken van een goed beloop der proef, volsta ik met eenige cijfers aangaande het chemische onderzoek.

Voor de doorstrooming:
1000 c.c. bloed bevatten 854 m.gr. gebonden en 9 m.gr. vrije aceton.

Na de doorstrooming;
740 c.c. bloed bevatten 411 m.gr. gebonden en 6,4 m.gr. vrije aceton,
630 gr. spier bevatten 318 m.gr. gebonden en 7,3 m.gr. vrije aceton,
390 gr. been bevatten 121 m.gr. gebonden en 3,8 m.gr. vrije aceton.

Er is hier dus slechts een verlies van 4 m.gr. gebonden aceton, dit is nog geen $^1/_2$ %.

Tabel XII.

Doorstrooming gedurende $5^1/_2$ uur van *skelet* en *spieren* van een der pooten van een grooten hond met een vloeistof be-

staande uit $^{9}/_{10}$ runderbloed en $^{1}/_{10}$ Ringer'sche vloeistof waaraan zijn toegevoegd *diacetonglucose* en 10 eenheden *insuline*.

		begin	1	2	3	4	5	5½
Duur der proef in uren . . .								
Druk in m.M. kwik			90	80	70	70	80	90
Hoev. bloed per min. in c.c. .			80	70	30	20	15	7
Temp. bloed in gr. C.			37^{5}	37^{5}	37^{5}	37^{5}	37^{5}	37^{5}
Temp. waterbad in gr. C. . . .			45	45	45	44	44	43
Temp. orgaankast in gr. C. . .			40	40	40	40	40	40
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1000						600
	gebonden aceton in m.gr.	743						266
Spier	gewicht in gr. . . .							1140
	gebonden aceton in m.gr.							428
Been	gewicht in gr. . . .							300
	gebonden aceton in m.gr.							55
Som gebonden aceton in bloed, spier en been in m.gr. . . .		743						749

Het bloed heeft den poot 13 maal doorstroomd.

Er is in deze proef een vermeerdering van gebonden aceton van 6 m.gr. of minder dan 1 %.

In deze proef is na te gaan of een langdurig contact van diacetonglucose met spiermassa een bijzonderen invloed uitoefent en tevens, of misschien de toevoeging van insuline eenige splitsende werking heeft op de gebonden aceton en, of insuline deze mogelijk zelfs in stoffen doet uiteenvallen, die zich aan de aceton bepaling onttrekken. Hiervoor werden ook nog bepalingen van vrije aceton gedaan waarbij gevonden werd:

1000 c.c. bloed vóór de doorstrooming bevatten 8 m.gr. vrije aceton,

600 c.c. bloed na de doorstrooming bevatten 3 m.gr. vrije aceton,

1140 gr. spier na de doorstrooming bevatten 8 m.gr. vrije aceton,

300 gr. been na de doorstrooming bevatten een spoor van vrije aceton,

Deze cijfers, met de in de tabel aangegevene, toonen duidelijk aan, dat er van een splitsende werking geen sprake is, daar zoowel de gebonden als de vrije aceton geen belangrijke verschillen voor en na de doorstrooming opleverden.

Tabel XIII.

Doorstrooming gedurende $3^1/_2$ uur van *skelet*, *spieren* en *huid* van de achterste lichaamshelft van een hond met een vloeistof bestaande uit $^{11}/_{12}$ runderbloed en $^1/_{12}$ Ringer'sche vloeistof waaraan is toegevoegd *diacetonglucose* en één eenheid *insuline*.

Duur der proef in uren		begin	1	2	3	$3^1/_2$
Druk in m.M. kwik			110	100	120	110
Hoev. bloed per min. in c.c.			80	50	15	5
Temp. bloed in gr. C.			37^5	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C.			46	46	46	44
Temp. orgaankast in gr. C.			40	40	40	40
Bloed	hoeveelheid in c.c.	1000				540
	gebonden aceton in m.gr.	538				135
Spier	gewicht in gr.					1220
	gebonden aceton in m.gr.					280
Been	gewicht in gr.					310
	gebonden aceton in m.gr.					47
Huid	gewicht in gr.					400
	gebonden aceton in m.gr.					61
Som van gebonden aceton in bloed, spier, been en huid in m.gr.		538				523

Het bloed heeft het lichaamsdeel ruim 9 maal doorstroomd.

Er is een verlies aan gebonden aceton van 15 m.gr. of nog geen 3 %.

In tegenstelling met andere reeds vermelde proeven, waarbij betrekkelijk veel insuline werd toegepast, werd nu de mogelijke werking van één eenheid onderzocht, eveneens met negatief resultaat. Een langdurige doorstrooming kon niet bereikt worden, zooals wel blijkt uit de afname van de snelheid waarmede het bloed circuleerde.

Een juist getal voor de gewichten van spier, been en huid voor de doorstrooming is ook hier niet aan te geven, waardoor een nauwkeurige vergelijking van vrije aceton, voor en na de proef, onmogelijk werd.

Voor de doorstrooming bleek 1 L. bloed 15 m.gr. vrije aceton te bevatten, 1 K.G. spier 10 m.gr. en 1 K.G. huid 14,5 m.gr. Het been werd niet onderzocht.

Na de doorstrooming werd gevonden:

540 c.c. bloed bevatten 5 m.gr. vrije aceton, dit is 10 m.gr. per L.,

1220 gr. spier bevatten 18 m.gr. vrije aceton, dit is 15 m.gr. per K.G.,

400 gr. huid bevatten 2 m.gr. vrije aceton, dit is 5 m.gr. per K.G.,

310 gr. been bevatten 4 m gr. vrije aceton, dit is 12 m.gr. per K.G.

Wanneer men de genoemde getallen vergelijkt, dan is het duidelijk, dat ook hier geen belangrijke toename van vrije aceton heeft plaats gehad, evenmin als een beduidende afbraak van gebonden aceton werd gevonden.

Een tweede reeks van proeven werd verricht om na te gaan, of bij de doorstrooming van een orgaan met verdund

bloed, waaraan is toegevoegd aceton en waarin steeds glucose aanwezig is, een binding van aceton aan een andere stof (misschien glucose) kan optreden. Hierbij zij verwezen naar de tweede vraag gesteld en omschreven in hoofdstuk II en die betrof de mogelijke werking van insuline om een verbinding tusschen glucose en aceton tot stand te brengen.

Deze proevenreeks werd niet op eenzelfde uitgebreide wijze gedaan als die waarbij de splitsing van acetonglucose werd onderzocht en werd beperkt tot de doorstrooming van lever en nier, al dan niet met toevoegen van insuline.

De doorstroomingstechniek was nagenoeg dezelfde als in de vorige proeven, behoudens de moeilijkheden veroorzaakt door de groote vluchtigheid van aceton; het chemische onderzoek verliep op gelijksoortige wijze als beschreven is bij de eerste reeks van proeven.

Dat er naast het toegevoegde aceton steeds voldoende suiker aanwezig was om een binding van aceton met glucose althans theoretisch mogelijk te maken, is wel duidelijk, wanneer men overweegt, dat het gebruikte bloed, onverdund, in den regel omstreeks 1 $^0/_{00}$ glucose bevat, een waarde, die bovendien ettelijke malen bij mijn onderzoekingen werd gecontroleerd.

De verdunningen in aanmerking genomen, is, ook bij doorstrooming van nieren, in het bloed zeker wel een minimum van 500 m.gr. suiker aanwezig.

Voor een goed overzicht en mede kortheidshalve, vermeld ik ook deze proeven in tabelvorm met eenig onderschrift.

Tabel XIV.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondelever* met een vloeistof bestaande uit $^4/_5$ runderbloed en $^1/_5$ keukenzoutoplossing waaraan zijn toegevoegd *aceton* en 10 eenheden *insuline*.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			40	30	24	20
Hoev. bloed per min. in c.c. .			200	200	200	200
Temp. bloed in gr. C.			37^5	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C. . . .			46	46	46	46
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. . .	1000				855
	vrije aceton in m.gr.	468				258
	gebonden aceton in m.gr.	0				0
	glucose in m.gr. . . .	760				39672
Lever	gewicht in gr.	235				375
	vrije aceton in m.gr.					40
	gebonden aceton in m.gr.	0				0
Som vrije aceton in lever en bloed in m.gr.		468				298
Som gebonden aceton in lever en bloed in m.gr.		0				0

Het bloed heeft de lever 24 maal doorstroomd.

De doorstrooming gebeurde in een gesloten systeem, waarbij aan de uitlaatopening 3 waschflesschen, gedeeltelijk gevuld met gedestilleerd water, verbonden werden, die na één uur vervangen werden door eenzelfde stel.

Het gehalte aan glucose in het bloed heeft een zeer sterke vermeerdering ondergaan, zonder twijfel o.a. door afbraak van glycogeen van de lever. Dit proces gaat na den dood van het proefdier zeer snel, hetgeen ook wel bleek bij de bloedsuikerbepalingen: het bloed voor de doorstrooming bevatte 0,76 $^0/_{00}$ suiker, na ± 5 minuten doorstrooming reeds 32,2 $^0/_{00}$ en na 2 uren 46,4 $^0/_{00}$ en toch verliepen tusschen den dood van den hond en het begin der doorstrooming niet veel meer dan 10 minuten. Toch moet men voorzichtig wezen met

het gevonden getal na 5 minuten doorstrooming want, het bloed voor dit onderzoek genomen, werd opgevangen onmiddelijk nadat het de lever verlaten had en mag dus niet gelijkgesteld worden met het bloed in zijn geheel. De concentratie van de suiker in dit bloed uit den veneusen afvoer is natuurlijk veel te hoog voor een gemiddelde van de geheele hoeveelheid bloed.

Dit komt zeer goed uit in een vergelijking met de waarden aan leversuiker en leverglycogeen die op nagenoeg gelijke tijdstippen onderzocht werden en wel onmiddellijk na den dood van den hond, na ongeveer 5 minuten doorstrooming en eenigen tijd na afloop der proef.

	voor de proef	na 5 minuten	na de proef.
suiker in bloed	0,76 °/₀₀	32,2 °/₀₀	46,4 °/₀₀
suiker in lever	16,3 °/₀₀	11,1 °/₀₀	3,5 °/₀₀
glycogeen in lever	1,35 °/₀₀	1,2 °/₀₀	0,8 °/₀₀

De hooge waarden van leversuiker voor de proef zijn misschien reeds het gevolg van glycogeen afbraak, ondanks het kleine tijdsverloop tusschen den dood van het dier en het opvangen van het proefstukje van de lever in warme kaliloog.

Er zij met nadruk op gewezen, dat de veranderingen in het suikergehalte niet uitsluitend berusten op de omzetting van glycogeen en dat bijv. eiwitsuiker een groote, zij het ook grootendeels nog onbekende, rol kan spelen.

Er zou niet minder dan 141 m.gr. of 30 % van de oorspronkelijke hoeveelheid vrije aceton zijn verloren, terwijl in de waschflesschen werd gevonden een totaal van 29 m.gr. of 6 %. Juist het terugvinden van aceton in de waschflesschen is het strikte bewijs, dat in de door mij gebruikte omstandigheden en met de gebruikte hoeveelheden zeer veel aceton kan verdampen.

Veel meer waarde dan het verdwijnen van vrije aceton, indien daar nog eenige waarde mag aan worden toegekend, heeft het ontbreken van een toename van gebonden aceton dat in deze proef wel bijzonder sterk uitkomt.

In deze proef zien wij dus geen vorming van gebonden aceton onder invloed van een doorstrooming met insuline.

Teneinde na te gaan of door het lekken van den zuiger of een andere mechanische onvolkomenheid de mogelijkheid bestond voor een sterke verdamping van het aceton en tevens om een scheiding te brengen in de foutenbronnen, werd een contrôleproef gedaan, waarbij het toestel met een gebruikelijk bloedmengsel, waaraan aceton was toegevoegd, werd doorstroomd, doch waarbij geen orgaan werd ingeschakeld maar de verbinding tusschen de gebruikelijke aanvoer- en afvoercanules tot stand kwam door een stukje gummislang.

Overigens werden geheel dezelfde voorwaarden vervuld waaronder de gewone orgaandoorstroomingen verliepen: de proef duurde 2 uren; de temperatuur van het bloed werd op 37° C. gehouden door het waterbad op 45° en de orgaankast op 39° te houden; de doorstrooming moest hier wel geschieden onder een druk van weinige m.M. kwik waardoor een goede stroomverdeeling gemakkelijk was te bereiken met het oog op gastoevoer; ook hier werd op de gebruikelijke wijze een stel van 3 waschflesschen ingeschakeld.

Bij het begin der proef bevatten 1200 c.c. bloed waarmede het toestel werd doorstroomd 447 m.gr. vrije aceton waarvan na twee uur werden teruggevonden 426 m.gr. in het bloed en 17 m.gr. (dit is bijna 4 %) in de waschflesschen.

Er is dus slechts een verlies van 4 m.gr. vrije aceton of ruim 1 %, hetgeen natuurlijk geen noemenswaarde hoeveelheid is en zeer zeker kan berusten op een onnauwkeurigheid der bepalingen.

Uit deze proef blijkt wel dat de verdamping zal moeten gebeuren in de orgaankast en wel uit het orgaan of uit het bijna voortdurend aanwezige lekbloed. Wel is een verdamping uit organen met een serosa overtrokken niet zoo waarschijnlijk, doch dikwijls is dit vlies niet intact, vooral niet wanneer er oedeem optreedt.

De verdamping uit het orgaan is niet gemakkelijk na te gaan, wat echter wel het geval is met de verdamping van het

lekbloed. Om hiervan eenig begrip te krijgen werd tijdens de juist beschreven proef in de orgaankast een open Petri-schaal geplaatst, waarin aan verdamping op 39° gedurende 2 uren 100 c.c. bloed bevattende 37 m.gr. vrije aceton werd blootgesteld. Hiervan bleken na 2 uren nog aanwezig te zijn 22 m.gr. zoodat dus ruim 40 % van het vrije aceton verdampt was.

De verdamping uit orgaan en lekbloed zijn natuurlijk niet tegen te gaan en ook niet te bepalen. Wel werd een poging gedaan dit acetonverlies te beperken door, zoo spoedig het proefbeloop dit toeliet, de orgaankast zorgvuldig af te sluiten met plasticine.

Teneinde na te gaan of ook bij een kleine hoeveelheid toegevoegde aceton verdamping zou optreden, werd een hondelever doorstroomd met 50 m.gr. aceton in een gesloten systeem met waschflesschen en waarbij de orgaankast zoo vlug mogelijk met plasticine werd gesloten.

Tabel XV.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondelever* met een vloeistof bestaande uit $^3/_4$ runderbloed en $^1/_4$ physiologische keukenzoutoplossing waaraan een kleine hoeveelheid *aceton* is toegevoegd.

		begin	½	1	1½	2
Duur der proef in uren . . .						
Druk in m.M. kwik			36	55	60	80
Hoev. bloed per min in c.c. .			160	140	120	90
Temp. bloed in gr. C.			37	37^5	37^5	37
Temp. waterbad in gr. C. . . .			46	46	46	46
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1000				910
	vrije aceton in m.gr.	50				48
Lever	gewicht in gr. . . .	155				245
	vrije aceton in m.gr.					6
Som vrije aceton in bloed en lever in m.gr.		50				54

Het bloed heeft de lever ongeveer 15 maal doorstroomd.

Uit de getallen in de tabel blijkt een teveel van 4 m.gr. vrije aceton na de doorstrooming, waarbij nog moet gevoegd worden 3 m.gr. die gevonden werden in de waschflesschen, dus totaal 7 m.gr. Dit getal moet echter verminderd worden met enkele milligrammen welke in de lever voor de doorstrooming aanwezig waren.

De getallen zijn te klein, vooral voor onze methode van acetonbepaling, om de toename in procenten uit te drukken.

Het feit, dat bij een geringe concentratie van het aceton toch nog 3 m.gr. in de waschflesschen teruggevonden worden, maakt het waarschijnlijk, dat evenals bij Tabel No. XIV (en ook in volgende proeven), een nog grooter hoeveelheid aceton op andere wijze verloren gaat, bijvoorbeeld door verdamping in de orgaankast. Dit verlies aan aceton zou ook nog wel invloed kunnen hebben op de uitkomsten der proeven waarbij een normale lever met normaal verdund bloed wordt doorstroomd en waarbij een geringe vermeerdering van aceton wordt waargenomen, zooals bij Tabel No. I is aangegeven. Deze vermeerdering zou in verband met het verdampingsverlies dan grooter zijn dan gewoonlijk wordt aangegeven.

Tabel XVI.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *hondelever* met een vloeistof bestaande uit $^3/_4$ runderbloed en $^1/_4$ keukenzoutoplossing waaraan *aceton* is toegevoegd.

Zie Tabel volgende bladzijde.

Het bloed doorstroomde de lever 11 maal.

Er bestaat een tekort aan vrije aceton van 72 m.gr. waarvan 16 m.gr. in de waschflesschen is opgevangen zoodat het verlies tenslotte bedraagt 54 m.gr. of 19 %.

De doorstrooming geschiedde in een gesloten systeem waarbij de orgaankast zoo spoedig mogelijk werd dichtgemaakt met plasticine, hetgeen echter niet veel invloed heeft gehad.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik			80	70	70	70
Hoev. bloed per min. in c.c. .			110	100	80	80
Temp. bloed in gr. C.			35⁵	36	37	37⁵
Temp. waterbad in gr. C. . . .			46	47	48	48
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. . .	1000				915
	vrije aceton in m.gr.	290				188
	gebonden aceton in m.gr.	17				12
Lever	gewicht in gr. . . .	195				280
	vrije aceton in m.gr.					30
	gebonden aceton in m.gr.					9
Som vrije aceton in bloed en lever in m.gr.		290				218

Het gecondenseerde water van het deksel van de orgaankast bevatte ongeveer $^1/_2$ m.gr. vrije aceton.

Tabel XVII.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *kalfsnier* met een vloeistof bestaande uit $^4/_5$ bloed van hetzelfde dier en $^1/_5$ keukenzoutoplossing waaraan zijn toegevoegd *aceton* en 5 eenheden *insuline*.

Zie Tabel volgende bladzijde.

Het bloed heeft de nier ruim 5 maal doorstroomd.

De doorstrooming geschiedde in een gesloten systeem doch de gasstroom door de aangesloten waschflesschen was zeer gering. Hierin werden dan ook slechts 2 m.gr. vrije aceton gevonden, zoodat een totaalverlies bestaat van 88 m.gr. vrije aceton. Dit is ongeveer 27 % van de oorspronkelijk toegevoegde hoeveelheid aceton.

		begin	½	1	1½	2
Duur der proef in uren						
Druk in m.M. kwik			160	160	150	155
Hoev. bloed per min. in c.c. .			50	45	40	40
Temp. bloed in gr. C.			38	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C . . .			46	43	43	42
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1000				635
	vrije aceton in m.gr.	323				113
	gebonden aceton in m.gr.	7				0
Nier	gewicht in gr.	415				765
	vrije aceton in m.gr.	5				123
	gebonden aceton in m.gr.	2				7
Urine	hoeveelheid in c.c. . .					15
	vrije aceton in m.gr.					2
	gebonden aceton in m.gr.					0
Som vrije aceton in bloed, nier en urine in m.gr.		328				238
Som gebonden aceton in bloed, nier en urine in m.gr.		9				7

Het verlies van 2 m.gr. gebonden aceton heeft natuurlijk door de onnauwkeurigheid der onderzoekingsmethode voor kleine getallen geen waarde, behoudens dan het feit, dat er geen belangrijke vermeerdering van gebonden aceton is opgetreden.

Tabel XVIII.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *kalfsnier* met een vloeistof bestaande uit $^5/_6$ bloed van hetzelfde dier en $^1/_6$ keukenzoutoplossing waaraan zijn toegevoegd *aceton*, *glucose* en 5 eenheden *insuline*.

Duur der proef in uren		begin	½	1	1½	2
Druk in m.M. kwik.			250	180	160	150
Hoev. bloed per min. in c.c. .			120	300	280	300
Temp. bloed in gr. C.			37	37^5	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C. . . .			44	44	44	44
Temp. orgaankast in gr. C.. .			39	40	40	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1000				773
	vrije aceton in m.gr.	255				142
	gebonden aceton in m.gr..	7				2
Nier	gewicht in gr.. . . .	285				462
	vrije aceton in m.gr.	0				63
	gebonden aceton in m.gr..	2				5
Urine	hoeveelheid in c.c. .					50
	vrije aceton in m.gr.					6
	gebonden aceton in m.gr..					0
Som vrije aceton in bloed, nier en urine in m.gr.		255				211
Som gebonden aceton in bloed, nier en urine in m.gr. . . .		9				7

Het bloed heeft de nier 30 keer doorstroomd.

De doorstrooming geschiedde in een gesloten systeem waarbij de orgaankast ongeveer een half uur na het begin werd dichtgemaakt met plasticine. Daarna werd met een zuigpomp de lucht uit de orgaankast weggezogen en deze luchtstroom werd door een drietal waschflesschen, gedeeltelijk met water gevuld, geleid teneinde de eventueel in de orgaankast verdampte aceton op te vangen. Ook werden waschflesschen op de gewone wijze aangebracht.

Deze laatste bevatten 1 m.gr., de flesschen aan de orgaankast bevestigd 4 m.gr. vrije aceton. Dit in aanmerking ge-

nomen is er een verlies van 39 m.gr. vrije aceton; dit is ongeveer 15 % van de oorspronkelijk aanwezige hoeveelheid.

Ook in deze proef is geen vermeerdering van gebonden aceton.

Aan de doorstroomingsvloeistof werden 500 m.gr. glucose toegevoegd om zeker te zijn, dat er een voldoende hoeveelheid vrije glucose aanwezig zou zijn om een eventueele binding van aceton aan glucose mogelijk te maken.

Tabel XIX.

Doorstrooming gedurende 2 uren van een *kalfsnier* met een vloeistof bestaande uit $^3/_4$ bloed van hetzelfde kalf en $^1/_4$ keukenzoutoplossing waaraan *aceton* is toegevoegd.

		begin	½	1	1½	2
Duur der proef in uren . . .						
Druk in m.M. kwik			120	100	100	100
Hoev. bloed per min. in c.c. .			120	100	100	90
Temp. bloed in gr. C.			36	37	37^5	37^5
Temp. waterbad in gr. C. . . .			46	46	47	48
Temp. orgaankast in gr. C. . .			39	39	39	39
Bloed	hoeveelheid in c.c. .	1000				750
	vrije aceton in m.gr.	238				117
	gebonden aceton in m.gr.	9				21
	suiker in m.gr. . . .	720				375
Nier	gewicht in gr. . . .	395				625
	vrije aceton in m.gr.					82
	gebonden aceton in m.gr.					8
Urine	hoeveelheid in c.c. .					25
	vrije aceton in m.gr.					3
	gebonden aceton in m.gr.					0
Som vrije aceton in bloed, nier en urine in m.gr.		238				202

Het bloed heeft de nier 12 maal doorstroomd.

Er is een tekort aan vrije aceton in bloed en nier van 36 m.gr. waarvan nog 17 m.gr. in de waschflesschen gevonden is, zoodat een verlies overblijft van 19 m.gr. of 8 %.

In vergelijking met andere proeven was dit weinig, doch opgemerkt moet worden, dat de concentratie van het aceton in deze proef niet groot is en bovendien weinig lekbloed ontstond. Ook nu werd gewerkt met een gesloten systeem waarbij de orgaankast werd dichtgemaakt met plasticine.

Aangenomen dat de nier voor de doorstrooming geen gebonden aceton bevatte is hier een vermeerdering van gebonden aceton van 20 m.gr. hetgeen juist het verlies aan vrije aceton zou compenseeren. Zoowel de betrekkelijke als de absolute waarden van de veranderingen van het vrije en het gebonden aceton zijn te klein om hieraan een conclusie te verbinden.

SAMENVATTING.

De hypothese, door meerdere onderzoekers geuit, dat voor volledige verbranding van ketonlichamen in het organisme een verbinding tusschen die stoffen of hun derivaten en een koolhydraat noodzakelijk is, zou kunnen berusten op de vorming van een verbinding tusschen aceton en glucose.

Er werden proeven verricht, waarbij verschillende weefsels en organen, die voor de stofwisseling van koolhydraten en ketonlichamen van belang zouden kunnen zijn, werden doorstroomd met verdund bloed, waaraan een verbinding acetonglucose, in de meeste gevallen diacetonglucose, was toegevoegd. Bij de doorstrooming van lever, nier, spier, been, huid en long werd de acetonglucose niet gesplitst, ook niet, indien insuline aan het bloed was toegevoegd.

In deze doorstroomingsproeven kan geen steun worden gevonden voor de veronderstelling, dat de volledige verbranding der ketonlichamen over een der onderzochte verbindingen acetonglucose zou verloopen.

LAQUEUR en GREVENSTUK stelden de hypothese op, dat insuline in het algemeen de synthese van glucose met andere stoffen bevordert, in het bijzonder met zuren, die in de intermediaire stofwisseling ontstaan, zooals oxyzuren (acetonlichamen).

Er werden proeven gedaan, waarbij werd nagegaan of bij de doorstrooming van lever en nier met verdund bloed, waarin glucose aanwezig was en waaraan aceton werd toegevoegd, een binding van aceton aan een andere stof kon worden aangetoond. De proeven geschiedden zoowel met als zonder insuline, doch een binding van aceton werd niet vastgesteld.

In deze doorstroomingsproeven kan geen steun worden gevonden voor de veronderstelling, dat onder invloed van insuline een verbinding van aceton en glucose gevormd zou worden.

Opgemerkt zij dat LAQUEUR en DINGEMANSE een afbraak vonden van mono- en diacetonglucose bij het levende dier. Mogelijk is door een *samenwerking* van organen bij een doorstrooming een dergelijk resultaat te bereiken, waar, blijkens mijn onderzoek, de organen afzonderlijk niet in staat zijn de genoemde stoffen aan te tasten.

In aansluiting aan de proeven in dit proefschrift vermeld, werden enkele experimenten met complexen van organen verricht, welke wel eenige aanleiding geven tot een voortzetting van dit onderzoek.

GERAADPLEEGDE LITTERATUUR.

BAGLIONI, S. Uberlebende Organen. Abderhalden's Handb. der biochem. Arbeitsmethoden. **3**—358—1912.

BLATHERWICK, N. R. Observations in Bloodfat in Diabetes. The Journ. of biol. Chemistry. **49**—193—1921.

CAMMIDGE, P. J. and HOWARD, H. A. H. New views on Diabetes mellitus. 1923.

DOIJER, J. Over de dieetbehandeling van de suikerziekte. 1924.

DRESEL, K. und ROTHMANN, H. Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers. Biochem. Zeitschr. **146**—538—1924.

EICHHORST, H. Handbuch der speciellen Pathologie und Therapie. 1887.

EMBDEN, G. und ALMAGIA, M. Uber das Auftreten einer flüchtigen jodoformbildenden Substanz bei der Durchblutung der Leber. Hofm. Beitr. **6**—59—1904.

EMBDEN, G. und KALBERLAH, F. Uber Acetonbildung in der Leber. Hofm. Beitr. **8**—121—1906.

EMBDEN, G., SALOMON, H. und SCHMIDT, F. Uber Acetonbildung in der Leber. Hofm. Beitr. **8**—129—1906.

FISCHER, E. Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft. **49**—93—1916, **58**—1572—1924.

FISCHLER, F. Physiologie und Pathologie der Leber. 1925.

FLASCHENTRÄGER UND LUEG, W. Zur Kenntnis des Eiweiszminimum. Klin. Wochenschr. **15**—694—1925.

FOLIN, O. On the separate determination of acetone and diacetic acid in diabetic urines. The Journ. of biol. Chemistry. **3**—177—1907.

FORSSNER, G. Uber die Einwirkung des Nahrungfettes auf die Acetonkörperausscheidung. Skand. Arch. f. Phys. **22**—349—1909.

FORSSNER, G. Uber die Einwirkung der Muskelarbeit auf die Acetonkörperausscheidung bei Kohlenhydratarmer Kost. Skand. Arch. f. Phys. **22**—393—1909.

GEELMUIJDEN, H. C. Untersuchungen über Acetonkörper. Skand. Arch. f. Phys. **11**—97—1901.

GEELMUIJDEN, H. C. Über den Acetongehalt der Organe an Coma diabeticum Verstorbener nebst Beiträge zur Theorie des Acetonstoffwechsels. HOPPE—SEILER's Zeitschr. f. phys. Chemie. **41**—128—1904.

GEELMUIJDEN, H. C. Uber den Acetongehalt der Organe an Coma diabeticum Verstorbener nebst Beiträge zur Theorie des Acetonstoffwechsels. HOPPE—SEILER's Zeitschr. f. phys. Chemie. **58**—255—1908/09.

GEELMUIJDEN, H. C. Uber das Verhalten der Acetonkörper im intermediären Stoffwechsel. Zeitschr. f. phys. Chemie. **73**—176—1911.

Geelmuijden, H. C. Uber das Schicksal der Ketonkörper im intermediären Stoffwechsel und über Zuckerbildung aus Fett. Skand. Arch. f. Phys. **40**—211—1920.

Goldfederovà, A. Glycogeenbepaling door Laufberger geciteerd in het Zeitschr. f. exp. Medizin. **42**—601—1924.

Hagedorn, H. C. und Jensen, B. Norman. Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid. Biochem. Zeitschr. **46**—*135*—1923.

Hirschfeld, F. Beobachtungen über die Acetonurie und das Coma diabeticum. Zeitschr. f. klin. Medizin. **28**—176—1895.

Hubbard, R. S. and Wright, F. R. Bloodacetone bodies after the injection of small amounts of adrenalin chloride. The Journ. of biol. Chemistry. **49**—385—1921.

Hijmans van den Bergh, A. A. Voordrachten over suikerziekte 1925.

Jaenicke, A. Beiträge zur sogenannten Acetonämie bei Diabetes Mellitus. Deutsch. Arch. f. klin. Medizin. **30**—108—1882.

Johansson, J. E. Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel. Skand. Arch. f. Phys. **1**—21—1909.

Krehl, L. Pathologische Physiologie. 1919.

Laquer, F. Die Stellung der Leber im intermediären Stoffwechsel. Klin. Wochenschr. **1**—822—1922.

Laqueur, E. und Grevenstuk, A. Insulin, seine Darstellung, physiologische und pharmakologische Wirksamkeit mit besonderer Berücksichtigung seiner Wertbestimmung. Ergebn. der Physiol. I, Bd. 23. 1925.

Marriott, W. M. The determination of acetone. The Journ. of Biol. Chemistry. **16**—281—1913/14.

Mendes de Leon, Ch. Onderzoekingen over ketonlichamen. Academisch proefschrift, Amsterdam 1925.

Messinger, J. Titrimetrische Bestimmung von Aceton in Methylalkohol. Ber. der deutsch. Chem. Gesellschaft. **21**—3366—1888.

Minkowski, O. Über das Vorkommen von oxybuttersäure im Harn bei Diabetes mellitus. Arch. f. exp. Path. und Pharm. **18**—35—1884.

Minkowski, O. Nachtrag über das Vorkommen von oxybuttersäure im Harn bei Diabetes mellitus. Arch. f. exp. Path. und Pharm. **18**—147—1884.

Müller, F. Die künstliche Durchblutung resp. Durchspülung von Organen. Handbuch der Bioch. Arbeitsmethoden *3 I*—321—1912.

Noorden, C. von und Isaac, S. Die Zuckerkrankheit und ihre Behandlung 1927.

Ohle, Heinz. Über Aceton-zucker und ihre Derivate. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. **1**—403—1924.

Ringer, A. I. Studies in Diabetes. The Journ. of biol. Chemistry. **17**—107—1914.

Rosenfeld, G. Über die Entstehung des Acetons. Deutsche medicinische Wochenschr. **40**—683—1885.

Rosenfeld, G. Die Grundgesetze der Acetonurie und ihre Behandlung. Centralblatt für innere Medicin. **51**—1233—1895.

Rosenfeld, G. Fett und Kohlenhydrate. Berl. Klin. Wochenschr. **29**—978—1906.

Sansum, W. D. and Woodyatt, R. T. Studies on the theory of diabetes. The Journ. of Biol. chemistry **21**—1—1915.

Schmitz, E. Nachweis, Bestimmung und Isolierung von Aceton, Acetessigsäure und β-oxybuttersäure. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. *5 II*—187—1924.

SCHWARTZ, L. Über die Oxydation des Acetons und homologer Ketone der Fettsäure reihe. Arch. f. exp. Pathol. und Pharm. **40**—168—1897/98.
SHAFFER, PH. A. Antiketogenesis I. The Journ. of Biol. Chemistry. **47**—433—1921.
SHAFFER, PH. A. Antiketogenesis II. The Journ. of Biol. Chemistry. **47**—449—1921.
SHAFFER, PH. A. Antiketogenesis III. The Journ. of Biol. Chemistry. **49**—143—1921.
SLIJKE, DONALD D. VAN. Studies of acidosis. The determination of β-hydroxybutyric acid, aceto-acetic acid and acetone in urine. The Journ. of Biol. Chemistry. **32**—455—1917.
SLIJKE, DONALD D. VAN and FITZ, REGINALD. Studies of acidosis. The determination of β-hydroxybutyric acid, aceto-acetic acid and acetone in urine. The Journ. of Biol. Chemistry. **32**—495—1917.
SLIJKE, DONALD D. VAN and FITZ, REGINALD. Studies of acidosis. The determination of β-hydroxybutyric acid, aceto-acetic acid and acetone in urine. The Journ. of Biol. Chemistry. **39**—23—1919.
SNAPPER, I en GRÜNBAUM, A. De beteekenis van de nier voor de ontleding der vetzuren. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. **1**—2856—1924.
SNAPPER, I. und *Grünbaum* A. Über die Methodiek der β-oxybuttersäurebestimmung in Leber und Muskeln. Biochem Zeitschr. **175**—357—1926.
THUNBERG, T. Zur Kenntnis des intermediären Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. Skand. Arch. f. Physiologie. **1**—40—1920.
WERTHEIMER, E. Stoffwechselregulationen. Regulation des Fettstoffwechsels. PFLÜGER'S Arch. f. die gesammte Physiologie. **213**—262—1926.
WITZEMANN, E. J. The effect of variations in the available alkali on the yield of acetone in the oxidation of butyric acid with hydrogen peroxide. The Journ. of Biol. Chemistry. **35**—83—1918.
WOODYATT, R. T. Studies on the theory of Diabetes. The Journ. of Biol. Chemistry. **20**—129—1915.
WOODYATT, R. T. and SANSUM, W. D. Studies on the theory of Diabetes. The Journ. of Biol. Chemistry. **1**—21—1915.